

Überwachung
der immunologischen Ereignisse
in allogenen Nierentransplantaten
mit Hilfe der Feinnadelaspirationszytologie
in Verbindung mit einem elektronischen
Coulter-Counter

Untersuchung der technischen Durchführung
und Zuverlässigkeit sowie kritische Betrachtung
von Aussagekraft, Wert und Indikation
der Methode in Zusammenhang
mit klinischen Parametern und der Stanzbiopsie

Christian Koller

Diss
München
1986



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554635_0007

AUS DEM INSTITUT FÜR CHIRURGISCHE FORSCHUNG
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

(DIREKTOR: Prof. Dr. med. Dr. h.c. W. B R E N D E L)

Überwachung der immunologischen Ereignisse in allogenen
Nierentransplantaten mit Hilfe der Feinnadelaspirationszytologie
in Verbindung mit einem elektronischen Coulter-Counter.

Untersuchung der technischen Durchführung und Zuverlässigkeit
sowie kritische Betrachtung von Aussagekraft, Wert und Indikation der Methode
in Zusammenhang mit klinischen Parametern und der Stanzbiopsie.

Inaugural Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
CHRISTIAN K O L L E R

München 1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dr. med. vet. C. Hammer

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Dr. h. c. W. Brendel

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 25. Februar 1986

A B K Ü R Z U N G E N

ATN	Akute Tubulusnekrose
ALG	Antilymphozytenglobulin
AR	Akute zelluläre Abstoßungsreaktion
ATG	Anti-Thymozyten-Globulin
C.C.	Coulter Counter
C.I.	Corrected Increment
Cy-A	Cyclosporin-A
Erys	Erythrozyten
FNB	Feinnadelbiopsie
FNAC	Feinnadelaspirationscytologie
Gr	Granulozyten
I.Z.	Inflammatorische Zellen
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
LGL	Large Granular Lymphocytes
Leukos	Leukozyten
Ly	Lymphozyten
m	Mittelwert
M	Molarität
mg	Milligramm
ml	Milliliter
μ l	Mikroliter
mm^3	Kubikmillimeter
MP	Methylprednisolon
n	Fallzahl
NGZ	Nierengewebszellen
p.B.	peripheres Blut
S.A.	Standardabweichung
sec	Sekunde
U/min	Umdrehungen pro Minute
ZTR	Zelluläre Transplantatreaktion

GLIEDERUNG

	Seite
1. <u>E I N L E I T U N G</u>	1
2. <u>P A T I E N T E N u n d D A T E N G U T</u>	3
2.1 Anzahl, Alter, Geschlecht der Patienten	3
2.2 Erst-, Zweit-, Dritttransplantationen	3
2.3 Medikamentengruppen	3
2.4 Grunderkrankungen	5
2.5 Empfänger-Spender Auswahl	5
3. <u>M A T E R I A L u n d M E T H O D E N</u>	7
3.1 Feinnadelbiopsie	7
3.1.1 Gewinnung von FNB und peripherem Blut	7
3.1.2 Anfertigung von Präparaten mit der Zytocentrifuge	9
3.1.3 Färbung der Präparate	10
3.1.4 Mikroskopische Auswertung der Präparate	13
3.1.5 Bewertung nach Corrected Increment - Kriterien	15
3.2 Vergleich Feinnadelbiopsie - Stanzbiopsie	17
3.2.1 Vergleichskriterien	17
3.3 Vergleich Feinnadelbiopsie - Klinik	19
3.3.1 Allgemeine Kriterien des Vergleichs	19
3.3.2 Behandlungsschemata	19
3.3.2.1 Basistherapie der Azathiopringruppe	21
3.3.2.2 Therapie bei Abstoßungskrisen	21
3.3.2.3 Kombination von Cyclosporin-A und Methyl- prednisolon als Basistherapie	22
3.3.2.4 Therapie bei Abstoßungskrisen	23
3.3.2.5 Cyclosporin-A allein als Basistherapie	24
3.3.2.6 Therapie bei Abstoßungskrisen	24
3.3.3 Zusätzliche klinische Daten	25
3.3.4 Kriterien für aus dem Vergleich ausgeschlossene Fälle	25
3.3.5 Exakte Kriterien für Vergleich von zellulärer Abstoßungsreaktion in der Feinnadelbiopsie mit klinischem Zustand	27
3.4 Coulter-Counter-Messung der FNB	29
3.4.1 Prinzip der Arbeitsweise des Coulter-Counters	29
3.4.2 Eichen des Gerätes	32
3.4.3 Durchführung der Messung	35
3.4.4 Rechenweg	35

4.	<u>ERGEBNISSE</u>	37
4.1	Feinnadelbiopsie	37
4.1.1	Bewertbare - nicht bewertbare FNB	37
4.1.2	Gradeinteilung der akuten zellulären Abstoßungsreaktion	38
4.1.3	Corrected Increment-Größen in den verschiedenen AR-Graden	39
4.1.4	Unterschiedliche Färbeergebnisse	39
4.1.5	Unterschiedliche Zellpopulationen im p.B. und in der FNB	40
4.2	Vergleich - FNB - Stanzbiopsie	44
4.2.1	Nicht verwertbare und vergleichbare Paare	44
4.2.2	Grad der Korrelation von FNB und Stanzbiopsie	45
4.3	Vergleich - FNB - Klinik	46
4.3.1	Klinische Probleme - Ursache keine akute zelluläre Abstoßungsreaktion	46
4.3.2	Unsichere klinisch akute zelluläre Abstoßungsreaktion	47
4.3.3	Guter - schlechter klinischer Befund	48
4.4	Coulter-Counter-Messung der FNB	59
4.4.1	Einteilung der Ergebnisse der Coulter-Counter- Berechnungen nach Corrected Increment in AR 0/I/II	59
4.4.2	Beurteilung der Bewertbarkeit von FNB mit Hilfe des Coulter-Counters	64
4.4.3	Vergleich der rein inflammatorischen Zellen mit Klinik und Corrected Increment	66
5.	<u>DISKUSSION</u>	70
5.1	Patienten und Datengut	70
5.1.1	Alter der Patienten	70
5.1.2	Cyclosporin-A	70
5.1.3	Grunderkrankungen	72
5.1.4	Empfänger - Spender - Auswahl	72
5.2	Material und Methoden	73
5.2.1	Feinnadelbiopsie	73
5.2.2	Stanzbiopsie	74
5.2.3	Klinische Parameter einer akuten zellulären Abstoßungsreaktion	75
5.2.4	Coulter-Counter-Berechnungen	77
5.3	Ergebnisse	82
5.3.1	Feinnadelbiopsie	82
5.3.2	Vergleich FNB - Stanzbiopsie	84
5.3.3	Vergleich FNB - Klinik	87
5.3.4	Coulter-Counter-Messung der FNE	94
6.	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	97
7.	<u>LITERATURANGABEN</u>	99
8.	<u>ANHANG</u>	113

1. E I N L E I T U N G

Die allogene Nierentransplantation ist heute ein allseits anerkanntes klinisch-therapeutisches Verfahren in der Behandlung der terminalen Niereninsuffizienz. Die operativen Techniken sind zur Routine geworden. Die immunologischen Probleme, wie akute zelluläre Abstoßungsreaktionen, sind trotz ständiger Weiterentwicklung der immunsuppressiven Therapie noch nicht völlig gelöst und die Diagnose ist mit Hilfe von klinischer Symptomatik, Labordaten und technischen Untersuchungen nicht immer sicher zu stellen. (74, 80, 84) Daher wurde von Anfang an die bewährte Methode der Stanzbiopsie zur histologischen Diagnostik der im Transplantat ablaufenden Veränderungen durchgeführt, um pathologische Veränderungen eindeutig zu erkennen. (47, 71, 80, 96, 110) Diese Methode ist jedoch mit einer hohen Komplikationsrate behaftet und ihre Indikation ist daher streng zu stellen. (98, 136) Vor einigen Jahren begannen daher die Forschungsgruppen um P. Häyry in Helsinki und C. Hammer in München die weniger invasive Methode der Feinnadelaspirationszytologie bei der Überwachung von allogenen Nierentransplantaten einzuführen.

Die Möglichkeiten dieser Methode hinsichtlich der Diagnose von zellulärer Transplantatreaktion, Virusinfektion (60, 115, 116), Veränderungen der Gewebszellen durch Ischämie, Abstoßungsreaktion und Medikamenteneinfluß wurden systematisch erforscht. (111, 127, 131, 135)

So wurden Zelldispersate aus abgestoßenen Nieren gewonnen; Art und zeitliches Auftreten der verschiedenen immunkompetenten Zellen an transplantierten Rattennieren untersucht und so die Bedeutung der jeweiligen Zellpopulationen bei Abstoßungsreaktionen gefunden. (64, 65, 70, 133, 134) In kontrollierten Studien konnte die weitgehende Übereinstimmung der Zusammensetzung der inflammatorischen Zellen in transplantierten Nieren mit den Ergebnissen der Feinnadelaspirate gezeigt werden. (67, 69) Die Reproduzierbarkeit mehrerer Biopsien aus einem Organ wurde bewiesen. (69, 73) Basierend auf diesen Experimenten konnte ein Bewertungsschema entwickelt werden, welches die verschieden starke Gewichtung der inflammatorischen Zellpopulationen und die unvermeidbare Kontamination der Aspirate mit peripherem Blut, das die Niere durchströmt, berücksichtigt. Das daraus resultierende "Corrected Increment" drückt als Zahlenwert die Intensität einer zellulären Transplantatreaktion aus. (68, 69, 70)

Durchführung, Bearbeitung und Auswertung der Aspiate wurden optimiert, standardisiert und exakt beschrieben. (68, 135) Die bisherigen Ergebnisse der Methode als zusätzliche Hilfe bei der klinischen Beurteilung von menschlichen Nierentransplantaten in der postoperativen Phase sind vielversprechend. (2, 58, 59, 63, 69, 111) Die FNB erwies sich als eine äußerst komplikationsarme Methode, die eine kontinuierliche Überwachung der Ereignisse im Transplantat ermöglicht. (68, 71, 111)

Ziel meiner Untersuchungen war:

1. An einer großen Zahl von Aspiraten die Ärzte im Klinikum Großhadern von der wenig zeitaufwendigen, komplikationsarmen und rasch auszuwertenden Methode zu überzeugen.
2. Aussagekraft, Wert und Indikation der FNB für den Arzt in der Klinik bei der Beurteilung eines Transplantates hinsichtlich Abstoßungsreaktion und Behandlungseinfluß zu untersuchen.
3. Die Zuverlässigkeit der Befunde bezüglich Zusammensetzung und Ausmaß der zellulären Infiltrate in den Aspiraten und ihrer Auswertung mit Hilfe des Corrected Increments an der bewährten Methode der Stanzbiopsie zu messen.
4. Mit Hilfe eines elektronischen Coulter-Counters noch präziser zu bestimmen, welche Zellen in welchem Ausmaß in eine transplantierte Niere bei verschiedenen klinischen Situationen einwandern und so die Genauigkeit und Zuverlässigkeit der Methode weiter zu erhöhen.

Die Arbeit begeisterte mich auch deshalb, weil ich schon während meiner Versuche im Labor den Bezug zur Klinik und den Patienten hatte.

2. PATIENTEN UND DATENGUT

2.1 Anzahl, Alter, Geschlecht der Patienten

Von Juli 1981 bis Oktober 1982 wurden von insgesamt 113 Patienten nach allogener Nierentransplantation mindestens eine oder mehrere bewertbare Feinnadelbiopsien (FNB) gewonnen und ausgewertet. Das Durchschnittsalter dieser 113 Patienten betrug 36,6 Jahre. Der jüngste Patient war 11 der älteste 60 Jahre zum Zeitpunkt der Transplantation; 35 Patienten davon waren Frauen und 78 Männer. Tabelle 1 zeigt, daß 75 % aller Patienten zwischen 20 und 49 Jahre alt waren. In der Gruppe über 50 Jahre, die bisher als Risikogruppe galt, waren 18 % der Patienten vertreten, während nur 7 % der Gruppe unter 20 Jahre angehörten. (Tab. 1) (84)

2.2 Erst-, Zweit-, Dritttransplantationen

Durchgeführt wurden Erst-, Zweit- und Dritttransplantationen. Da in die Beobachtungen von 4 Patienten jeweils zwei aufeinanderfolgende transplantierte Nieren eingingen, ergab sich, daß von den 113 Patienten insgesamt 117 transplantierte Nieren untersucht wurden. Von diesen 117 allogenen Transplantationen waren 99 Ersttransplantationen, 14 Zweittransplantationen und 4 Dritttransplantationen. (Tab. 2)

Im Zeitraum dieser Untersuchungen wurden viermal Niere und Pankreas simultan transplantiert. Jedoch wurde bei keinem dieser Patienten eine FNB durchgeführt.

2.3 Medikamentengruppen

Die Patienten dieser Untersuchungen wurden nach unterschiedlichen Prinzipien immunsuppressiv behandelt. In der ersten Phase der Untersuchung erhielten fast alle Patienten Azathioprin als Basistherapie. Später wurde eine gewisse Anzahl von Transplantierten in einer sogenannten Cyclosporin-A-Studie ausschließlich mit Cyclosporin-A (Cy-A) als Basisimmunsuppressivum behandelt. In letzter Zeit wurden die besten Erfolge mit einer Cy-A-Therapie und zusätzlichem "low dose" Urbason erzielt. Die genaue Dosierung und Durchführung der Basisimmunsuppression sowie die zusätzliche Behandlung von Abstoßungsreaktionen bei den verschiedenen Therapie-Prinzipien werden in Punkt 3.3.2 genauer beschrieben.

Alter (Jahre)	Patienten (n)	in %
11 - 19	8	7
20 - 29	30	27
30 - 39	22	19
40 - 49	33	29
50 - 59	19	17
60	1	1
Summe	113	100
weiblich	35	78 männlich

Tabelle 1 : Alters- und Geschlechtsverteilung der nierentransplantierten Patienten

Art der Transplantation	Transplantationen (n)
Erst -Transplantation	99
Zweit-Transplantation	14
Dritt-Transplantation	4
Summe	117

Tabelle 2 : Anzahl und Verteilung allogener Nierentransplantationen

57 der 117 in die Beobachtung eingegangenen transplantierten Nieren wurden mit Azathioprin als Basistherapie, 10 Nieren ausschließlich mit Cy-A und 50 Nieren mit Cy-A kombiniert mit einer "Low dose" Urbason behandelt. (Tab. 3)

2.4 Grunderkrankungen

Beim überwiegenden Teil der Patienten konnte histologisch und anamnestisch geklärt werden, welche Grundkrankheiten zur terminalen Niereninsuffizienz geführt hatten. Die folgende Tabelle 4 zeigt die Häufigkeit der verschiedenen Grunderkrankungen.

Bei 76 Patienten führte eine Glomerulonephritis unterschiedlicher Genese zum terminalen Nierenversagen. In 11 Fällen war eine bakterielle Pyelonephritis Ursache des Nierenfunktionsverlustes. Unter die Bezeichnung interstitielle Nephritis fallen 2 Gichtnephritiden und eine Nephritis bei Phenacetinabusus. Bei 9 Patienten bestanden Anomalien der Nieren oder der ableitenden Harnwege. Auch chronische Pyelonephritiden bei Abflußstörungen werden unter dieser Rubrik zusammengefaßt. Die 7 anderen Ursachen waren vaskuläre Anomalien, Steinhydronephrosen (3x), Cystinurie, Urotuberkulose und Stromunfall je 1x. Bei 7 Patienten konnte die Ursache der terminalen Niereninsuffizienz nicht geklärt werden. (Tab. 4)

2.5 Empfänger-Spender Auswahl

Ziel der laborchemischen immunologischen Untersuchungen im Rahmen der Nierentransplantation ist die Verlängerung der Transplantatüberlebenszeit. Dazu werden die HLA-A, -B, -C und -DR Antigene sowohl vom Empfänger als auch vom Spender bestimmt. (4, 123) Ferner wird das Empfängerserum auf präformierte Antikörper getestet, deren Bildung durch eine vorangegangene Schwangerschaft oder Bluttransfusionen induziert sein kann. Mit der Durchführung der Kreuzprobe nach Terasaki werden Spender- und Empfängerantigenität direkt auf eine immunologische Reaktion geprüft. (5, 45) Nach den Richtlinien von Eurotransplant/ Leiden wird bei der Spender-Empfängerauswahl ein möglichst geringer HLA-Antigen-Mismatchgrad bei obligat negativer Kreuzprobe gefordert. (34, 35, 36, 94) Absolute Transplantationsdringlichkeit aus klinischer Indikation kann ein Abweichen von diesen Richtlinien bewirken.

Behandlungsgruppe	Transplantationen (n)
Azathioprin	57
Cy - A	10
Cy - A + Urbason	50
Summe	117

Tabelle 3 : Verteilung der Nierentransplantationen auf die unterschiedlichen Behandlungsgruppen

Grunderkrankung	Patienten (n)	in %
Glomerulonephritis	76	67
bakterielle Pyelonephritis	11	10
interstitielle Nephritis	3	3
urogenitale Anomalien	9	8
andere Ursachen	7	6
ungeklärte Genese	7	6
Summe	113	100

Tabelle 4 : Ursachen der terminalen Niereninsuffizienz

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1 Feinnadelbiopsie

3.1.1 Gewinnung von FNB und peripherem Blut

Die transplantierte Niere liegt extraperitoneal in der rechten bzw. linken Fossa iliaca. Durch diese Lokalisierung ist die Transplantatnieren normalerweise leicht palpabel und damit ihre Lage gut zu bestimmen. Der verheilte Wundbezirk wird sorgfältig desinfiziert^{1,2)} und anschließend mit einem sterilen Lochtuch³⁾ abgedeckt. Der Arzt, der die Biopsie durchführt, trägt sterile Einmalhandschuhe⁴⁾. In eine 20 ml-Spritze⁵⁾ wird der Inhalt eines Fläschchen mit 5 ml steril abgefülltem, mit EDTA versehenem Nährmedium⁶⁾ aufgezogen. Die Spritze wird in einen Camecogriff⁷⁾ eingespannt, der der besseren Handhabung während der Biopsie dient und es erleichtert, einen konstanten Sog aufrechtzuerhalten. Nun wird die Biopsienadel⁸⁾ durch die Haut in das Nierenparenchym eines Nierenpols eingeführt. Bevorzugt wird die Nadel unterhalb der Wunde platziert, da dort die Nerven durchtrennt sind und somit kein Schmerz wahrgenommen wird. Der richtige Sitz der Nadel wird erkannt durch einen leichten pulssynchronen Ausschlag der Nadel. Ist dies der Fall wird der Drain der Nadel gezogen und die Spritze, die in den Camecogriff eingespannt ist, auf die Nadel gesetzt. Nun wird mit Hilfe des Griffes volles Vakuum in der Spritze erzeugt und die Nadel ein bis zwei Zentimeter unter vibrierenden Bewegungen im Parenchym auf- und abbewegt, um so aus mehreren verschiedenen Bezirken Material zu gewinnen. Dies geschieht solange bis blutdurchmisches Aspirat in der Spritze sichtbar wird. (Abb. 1)

1) Wundbenzin, Kliniksapotheke

2) Kodan-Tinktur Forte, gefärbt, Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt

3) Lochtuch, Sengewald GmbH, Rosenheim

4) Handschuhe steril, Peha Taft

5) Einmalspritzen, B. Braun, Melsungen

6) RPMI - 1640 Medium mit 1 ml 1 M Hepespufler/Liter und 250 mg EDTA/Liter bei Fresenius/Martinsried steril in 5 ml-Fläschchen abgefüllt

7) Camecogriff, Camecon AB 8305 Täby Schweden

8) Spinal Needle, B-D & Luer Lok, Becton, Dickinson and Company, Größe 90 - 7, 22 G 3 1/2, Rutherford

Unter Beibehaltung des Vakuums wird die Nadel aus der Niere gezogen. Da ein Großteil des so aspirierten Materials sich in der langen Nadel befindet, ist es wichtig, sofort anschließend die Nadel mit dem Nährmedium in der Spritze mehrmals durchzuspülen und letzteres wieder aufzusaugen, um so alle Zellen aus der Nadel in die Nährflüssigkeit der Spritze zu bekommen. Das Durchspülen geschieht mit Hilfe einer Kanülenhülse¹⁾. Diese Methode führt zur Aspiration von ca 10 ul repräsentativem Zellmaterial. Eine Kontamination mit ebenfalls aspiriertem Blut ist bei der starken Durchblutung des Organs nahezu immer gegeben. Die Einstichstelle wird anschließend mit einem sterilen Pflasterverband²⁾ versehen. (68, 69, 102, 135)

Als Referenz für die FNB-Werte benötigt man eine ähnliche Probe aus dem peripherem Blut (pB). (68) Für die zusätzlichen Tests, wie z.B. dem Monitoring im peripheren Blut mit Hilfe monoklonaler Antikörper, werden jeweils ca 10 ml venöses Blut aus einer peripheren Vene abgenommen. Davon werden sofort 1 - 2 Tropfen in ein Fläschchen mit 5 ml Nährmedium gespritzt, gleich dem wie es für die Feinnadelbiopsie verwendet wird. Das restliche Blut wird sofort mit Heparin ungerinnbar gemacht und so für die zusätzlichen Tests vorbereitet.

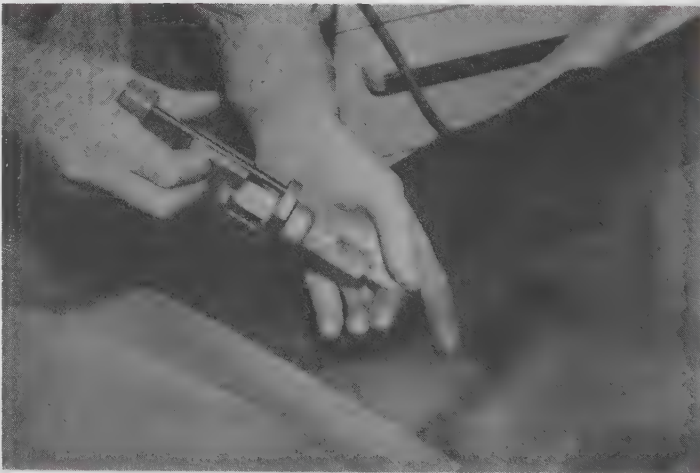


Abbildung 1: Durchführung einer Feinnadelbiopsie

1) Kanülen, Sterikan B Braun Melsungen

2) Pflasterverband, Kliniksapotheke

3.1.2 Anfertigung von Präparaten mit der Zytocentrifuge

Die so in der Klinik gewonnenen Proben werden im Institut innerhalb des gleichen Tages bearbeitet. Von FNB und peripherem Blut werden je nach Bedarf ein oder mehrere Zytocentrifugenausstriche angefertigt. Auf die beschrifteten Objektträger¹⁾ werden Filzkärtchen²⁾ gelegt, die mit einem Loch versehen sind. Passend dazu wird ein Plastiktrichter mit einer dem Loch des Filzkartons entsprechend großen Öffnung an seiner Rückwand zur Deckung gebracht und in einen kleinen Blechschlitten eingespannt. Dieser Blechschlitten wird nun ausbalanciert in die Zentrifuge³⁾ gehängt. Dann werden in den Trichter 200 µl der entsprechenden Proben von FNB und pB mit einer Eppendorf-Pipette⁴⁾ eingefüllt und anschließend 5 Minuten bei 500 U/Min zentrifugiert. Dabei wird die sich zuerst im Trichter befindliche Probe durch das an der Außenseite liegende Loch der Küvette und des Filzkartons hindurch auf den Objektträger geschleudert. Die Zellen bleiben darauf haften und die Flüssigkeit wird von dem Filz abgesaugt. Nach Abschluß der Zentrifugation werden die Schlitten wieder aus der Zentrifuge genommen und die Objektträger ausgespannt. Die Ansammlung von Zellen ist als kleiner runder Fleck auf dem Objektträger sichtbar. Um eine möglichst gute Verdünnung zu erhalten, werden Feinnadelaspirat und pB in der Neubauer-Zählkammer⁵⁾ im Hellfeld Mikroskop⁶⁾ bei 10-facher Vergrößerung ausgezählt.

1) Objektträger, 76 x 26 mm, R. Langenbrinck, Emendingen

2) Filter Cards, Cat.No. 599 x 45 Shandon

3) Zytocentrifuge mit Küvetten, Cytospin II, Shandon, Labortechnik GmbH, Frankfurt

4) Eppendorf-Pipette 3130, Eppendorf Gerätebau, Netheler & Hinz GmbH, Hamburg

5) Neubauer-Zählkammer bezogen über Firma Empfenzeder, München

6) Hellfeld-Mikroskop, Firma Zeiss

Je nach Bedarf ist es notwendig vor Eingabe der jeweiligen Proben in die Zentrifuge, die Zellsuspension mit Nährmedium entsprechend zu verdünnen oder manchmal auch durch Abzentrifugieren¹⁾, Absaugen von überschüssigem Nährmedium und Resuspendierung der Probe, diese zu konzentrieren und entsprechend auf eine Zellzahl von 5×10^5 Zellen einzustellen. Die angefertigten, ungefärbten Präparate werden unter dem Mikroskop kontrolliert. Hier kann man Erythrozyten und kernhaltige Zellen differenzieren. Wichtig ist, daß die Dichte der Proben so gewählt ist, daß im Zentrifugenpräparat die Zellen einzeln nebeneinander zu liegen kommen. Liegen die Zellen in mehreren Schichten übereinander ist das Präparat zu dicht und kann später nicht sicher beurteilt werden. Andererseits müssen genügend kernhaltige Zellen auf dem Ausstrich zu finden sein. Wenn alle Präparate gelungen sind, beginnt die Färbung. (40)

3.1.3 Färbung der Präparate

Zur Routinedifferenzierung dient die Färbung nach Pappenheim. (14, 55) Die Präparate werden einige Minuten luftgetrocknet, anschließend horizontal auf eine Färbebank gelegt und mit unverdünnter May-Grünwald-Lösung²⁾ vollständig bedeckt. Diese Lösung dient zur Fixierung. Nach drei Minuten wird die May-Grünwald-Lösung mit Aqua bidest³⁾ aus der Leitung abgespült und Aqua bidest 1 Minute auf den Präparaten belassen. Dann werden die Präparate mit jeweils neu filtrierter und 1 : 20 mit Aqua bidest verdünnter Giemsa-Lösung⁴⁾ für 30 Minuten gefärbt. Danach werden die Präparate gründlich mit Aqua bidest abgespült, schräggestellt und luftgetrocknet. Auf die getrockneten Objektträger wird mit Eukitt⁵⁾ ein Deckplättchen⁶⁾ im Bereich der runden Zellansammlung geklebt und das Präparat so unbegrenzt haltbar gemacht.

1) Zentrifuge Rotanda S für Zentrifugation bis 4 500 U/min
Firma Hettich, Tuttlingen

2) May-Grünwalds-Stammlösung, E. Merck, Darmstadt,

3) Aqua bidest aus der zentralen Zuleitung

4) Giemsa-Lösung, E. Merck, Darmstadt,

5) Eukitt, O. Kindler, Freiburg i.Br.

6) Deckplättchen aus Glas, 18 x 18 mm, Firma Menzel,

Zu weiteren Differenzierungen dient eine Peroxidasefärbung. (125) Als Inkubationsmedium werden 10 mg 3,3-Diaminobenzidin-Tetrahydrochlorid¹⁾ in einigen Tropfen N,N-Dimethylformamid²⁾ oder durch Erwärmen in 10 ml 0,1 M Tris-HCl-Puffer³⁾, pH 7,2 - 7,8 und 10 ml 0,2 %igem frischem Wasserstoffperoxid⁴⁾ gelöst und gut gemischt. Der pH-Wert wird geprüft und das Gemisch filtriert. Eine halbe Minute in 2-Propanolol⁵⁾ fixierte Präparate werden ca 30 Minuten bei 37° C im Inkubationsmedium gefärbt. Anschließend werden die Präparate mit Aqua bidest gespült und für 5 Minuten in 0,1 % Osmiumtetroxid⁶⁾ gelegt. Nach erneuter Spülung mit Aqua bidest werden die Präparate mit Glycerin-Gelatine⁷⁾ und einem Deckglas abgedeckt.

-
- 1) Fluka AG, Buchs SG/Schweiz Bestell-Nr. 32750
 - 2) Sigma Chemical Company P. O. Box 14508, St. Louis, USA No. 4637
 - 3) bezogen von der Kliniksapotheke
 - 4) Perhydrol 30 %ig H₂O₂ z. A. Art. 7209 E. Merck, Darmstadt
 - 5) 2 Propanol 1 l/2,5 l/20 kg E. Merck, Darmstadt, Bestell-Nr.9634
 - 6) Sigma Chemical Company siehe 2), Nr. 0-5500
 - 7) Glycerol Gelatin 15 ml Sigma Chemical Company siehe 2) Nr. GG 1

Eine weitere Hilfe bei der Differenzierung bietet in vielen Fällen die zytologische Standardfärbung nach Szczepanik - Cytocolor¹⁾. Die angefertigten Zytocentrifugenpräparate werden sofort nach Zentrifugation in feuchtem Zustand mit dem Fixationsspray Merckofix²⁾ behandelt. Die Reagenzien werden in der nachfolgend angeführten Reihe in abdeckbare Küvetten gefüllt. Die Objektträger müssen in die Lösung ein- und ausgetaucht werden, einfaches Hineinhalten ergibt schlechte Färbeergebnisse.

Den Abstrich eintauchen in:

1. destilliertes Wasser	10 x 1 sec
2. Hämatoxylinlösung	1 x 1 min
3. unter fließendem Wasser spülen	1 x 5 sec
4. 2-Propanol z. A.	2 x 1 sec
5. Polychromlösung	1 x 1 min
6. destilliertes Wasser	5 x 1 sec
7. 2-Propanol z. A.	5 x 1 sec
8. 2-Propanol z. A.	5 x 1 sec
9. Xylol z. A.	5 x 1 sec
10. Xylol z. A.	5 x 1 sec

Das Xylol-feuchte Präparat wird sofort mit Entellan³⁾ und einem Deckgläschen eingedeckt.

Die Gesamtdauer der Färbung beträgt ca 3 Minuten.

-
- 1) Cytocolor-Zytologische Standardfärbung nach Szczepanik
E. Merck, Darmstadt, Best.-Nr. 15 355
 - 2) Merckofix Fixationsspray, E. Merck, Darmstadt,
92 g - Spraydose Best.-Nr. 3970
 - 3) Entellan Schnelleindeckmittel 100 ml/500 ml,
E. Merck, Darmstadt Best.Nr. 7961

3.1.4 Mikroskopische Auswertung der Präparate

Die Zelldifferenzierung erfolgt mit einem Universal-Mikroskop¹⁾. Das richtige Vorgehen beim Lesen der Präparate ist wichtig. Als erstes sollte immer das periphere Blut betrachtet werden, da hier die Vielzahl der verschiedenen Zellen und deren Aktivierungsgrad geringer ist. Man schafft sich zuerst unter 120-facher Vergrößerung eine Übersicht, bildet sich bei 400-facher Vergrößerung einen groben Eindruck von der Verteilung, Häufigkeit und Aktivierung der verschiedenen Zellsorten. Die endgültige Auswertung geschieht bei 1 200-facher Vergrößerung mit Immersionsöl. Gezählt werden 3 x 100 Leukozyten, wobei das Präparat meanderförmig, möglichst gleichmäßig in allen seinen Bereichen abgefahren wird. Die Verteilung der einzelnen Zellsorten wird so prozentual bestimmt. Nachdem man aus dem peripheren Blut einen guten Eindruck über die Morphologie der weißen Blutzellen gewonnen hat, ist es anschließend einfacher, die verschiedenen Zellpopulationen der Leukozyten, ihre aktivierten Formen sowie Gewebszellen zu unterscheiden. Die Differenzierung der FNB-Präparate geschieht in gleicher Weise wie im peripheren Blut. Bei 120-facher Vergrößerung prüft man ob Nierengewebszellen vorhanden sind, wenn, in welcher Zahl und ob Verbände aufzufinden sind. Bei 400-facher Vergrößerung wird der Zustand der Gewebszellen und die Verteilung der einzelnen Populationen von Leukozyten beurteilt. Für eine grobe klinische Abschätzung würde diese Blickdiagnose genügen, um eine Aussage über den Zustand der Niere zu treffen. Die endgültige Bewertung geschieht jedoch wieder unter 1 200-facher Vergrößerung, indem 3 x 100 Leukozyten differenziert und ihre prozentuale Verteilung durch Eintippen in den Zählapparat²⁾ bestimmt werden. Außerdem wird gleichzeitig exakt die Anzahl der verschiedenen Nierengewebszellen pro 100 Leukozyten ausgezählt und zusätzlich ihre Morphologie betrachtet.

1) Zeiss-Mikroskop, Standard 18, Zeiss

2) Zählapparat, Leucodiff 600, Instrumentationen laboratory,
Boskamp GmbH

Folgende verschiedene Arten von Leukozyten werden nach zytologischen Gesichtspunkten und gemäß den Beschreibungen von Eeva von Willebrand differenziert: (68, 75, 125, 131, 135)

Lymphoblasten, Plasmablasten, Plasmazellen, Lymphozyten, Large Granular Lymphocytes (LGL), die verschiedenen Arten der Segmentkernigen und ihre jugendlichen Formen, Monozyten und Gewebsmakrophagen.

Die Gewebszellen werden nach Endothelzellen (EZ) und Tubuluszellen (TZ) differenziert und ihre Morphologie beschrieben.

3.1.5 Bewertung nach Corrected Increment - Kriterien

Zur Auswertung diene folgender Bewertungsbogen (Tab. 5). In diesen werden die prozentualen Anteile der Leukozyten im peripheren Blut und FNB eingetragen. Um die Kontamination der FNB durch peripheres Blut und seine Leukozyten annähernd zu eliminieren, wird nun von jeder einzelnen Zellsorte die Differenz zwischen FNB und pB bestimmt und somit die inflammationspezifischen Zellen im Nierengewebe ermittelt. Eine FNB gilt außerdem nur als "bewertbar", wenn mindestens 5 - 10 Nierengewebszellen (NGZ) pro 100 Leukozyten aufzufinden sind. (68) Ansonsten muß angenommen werden, daß die FNB großteils nur aus Blut besteht, d.h. zu "naß" ist. Die ermittelten Unterschiede der einzelnen Zellsorten werden mit einem für die jeweilige Zelle spezifischen Faktor multipliziert (Tab 6). Diese verschiedenen Faktoren wurden von Pekka Häyry in experimentellen Analysen der zellulären Abstoßungsreaktion und in über 1000 FNB gefunden und drücken das immunologische Gewicht der beteiligten Zellen bei Abstoßungsreaktionen aus. (64, 65, 133, 134) Durch Addition der einzelnen korrigierten Werte erhält man das sogenannte "Corrected Increment" (CI), dessen steigender Wert das Maß für die Heftigkeit einer zellulären Reaktion darstellt. (69, 70) Das Vorherrschen bestimmter immunologisch aktiver Zelltypen in der FNE erlaubt so die Einteilung der Akuten zellulären Abstoßungsreaktion in die Schweregrade 0, I, II und III und ihre Zwischenstufen. (56, 58, 111)

AR Grad 0: Es sind keine Anzeichen einer Abstoßungsreaktion nachweisbar.

AR Grad I: Eine leichte, beginnende bzw. abklingende Inflammation ist zu erkennen.

AR Grad II: Die Entwicklung einer vollen zellulären Abstoßungsreaktion liegt vor.

AR Grad III: Es handelt sich um eine späte, meist irreversible, zelluläre Abstoßungsreaktion.

Ein weiterer Punkt der Auswertung besteht in der Beurteilung des Gewebes nach den Gesichtspunkten von 1. akuter Tubulusnekrose (ATN), 2. Cy-A-Nephrotoxizität und 3. Schäden durch massive Abstoßungsreaktionen. Auf den Punkt der Gewebebeurteilung wird im Rahmen dieser Arbeit jedoch nicht eingegangen und auf frühere (Erika Rössler) (111) und kommende Arbeiten verwiesen.

Ludwig-Maximilians-Universität München
Klinikum Großhadern
Institut für Chirurgische Forschung
Direktor: Prof. Dr. h. c. W. Brendel



FNB NR	PAT	DATUM			
TP, DAT.	FUNKTIONSBEGINN:	P.OP.	DIALYSE	JA	NEIN

KLIN. BETUND: TEMP.: °C RR: mmHg TRANSPLANTAT:
LEUKOPENIE (<4000) JA NEIN

VORGESTERN	GESTERN	HEUTE	BES.: STANZBIOPSIE: JA NEIN
KREATININ			ING.
URINPROD.			ANGIO.:
AZATHIOP.			
METHYLPR.			
ALG			

	LB	PB	PC	LY	FNM				ST	MO	MP	NGZ	
					JUV	NEU	FOS	BAS				TZ	EZ
FNB													
BLUT													
Increment													

BEURTEILUNG:

Tabelle 5: "Alter" Bewertungsbogen für die FNB

Lymphoblast	x	1,0
Plasmablast	x	1,0
Lymphozyt	x	0,1
Monozyt	x	0,2
Makrophage	x	1,0

Tabelle 6 : Zellen, die bei der Berechnung des Corrected Increments bewertet wurden und deren Multiplikationsfaktoren entsprechend ihrer geschätzten Bedeutung im Abstoßungsprozeß

3.2 Vergleich FNB - Stanzbiopsie

3.2.1 Vergleichskriterien

Die Stanzbiopsie stellt am exaktesten das Ausmaß der zellulären Inflammation dar, da hier direkt die Dichte, Verteilung und Ausdehnung des Infiltrates im Nierenparenchym an Gewebsschnitten beurteilt werden kann. (71, 96, 111) Die Stanzbiopsie dient daher als Richtgröße, an der die Güte der Feinnadelbiopsie-Ergebnisse gemessen werden. Unsere Einteilung der Abstoßungsgrade von AR 0 - III wird, wie in Tabelle 7 gezeigt, mit den Bewertungsmaßstäben zellulärer Transplantatreaktion (ZTR) der Pathologen in Übereinstimmung gebracht. (Tab. 7)

Mit diesem Vergleichsschema wird untersucht, wie hoch der Prozentsatz der Fälle ist, in denen die Bewertung der FNB und der Nierenbiopsie völlig übereinstimmen, um einen halben oder ein Grad voneinander abweichen (z.B. FNB AR I - Stanzbiopsie: mittelschwer bis schwere ZTR), oder sich sogar mehr als ein Grad unterscheiden.

Bewertungsmaßstäbe	
von akuter Abstoßungs- reaktion	bzw. zellulärer Transplantatreaktion
(AR)	(ZTR)
FNB	Nierenbiopsie
AR 0	keine ZTR
AR 0 - I	sehr geringe ZTR keine wesentliche ZTR geringe - minimale ZTR
AR I	milde ZTR geringe - mäßiggradige ZTR beginnende bzw. abklingende ZTR
AR I - II	mäßiggradige - mittelschwere ZTR
AR II	mittelschwere - schwere ZTR
AR II - III	schwere ZTR
AR III	sehr schwere ZTR

Tabelle 7 : Bewertungsmaßstäbe von akuter Abstoßungsreaktion bzw. zellulärer Transplantatreaktion

3.3 Vergleich Feinnadelbiopsie - Klinik

3.3.1 Allgemeine Kriterien des Vergleichs

Die FNB Ergebnisse wurden mit dem klinischen Zustand zum Zeitpunkt der Aspiration in einer retrospektiven Studie korreliert. Die Einschätzung des momentanen Zustandes eines Patienten hängt von einer Vielzahl von klinischen, laborchemischen und weiteren Parametern ab. (84, 110) Als objektivster Wertmesser für Vorhandensein und Stärke von Abstoßungsreaktionen wird daher das Ausmaß zusätzlicher Abstoßungstherapie herangezogen. Diese Therapie wird von den behandelnden Ärzten durchgeführt, die alle Parameter, so auch das Befinden des Patienten zum jeweiligen Zeitpunkt in ihre Überlegungen eingehen lassen. Zum Vergleich von FNB und klinischer Charakteristik wurde folglich im Zeitraum der Beobachtung von jedem Patienten die gesamte immunsuppressive Behandlung in eigene Bögen eingetragen. Zum Verständnis der Wertung der verschiedenen Therapien werden im folgenden die unterschiedlichen Behandlungsschemen der Basis- und Abstoßungstherapie vorgestellt.

3.3.2 Behandlungsschemata

Zur Unterdrückung einer Abstoßungsreaktion müssen allogene transplantierte Patienten immunsuppressiv behandelt werden. (97) Bei unseren Patienten wurden zwei verschiedene Medikamente als Basisimmunsuppressiva verwendet. Eine Gruppe von Patienten wurde mit Azathioprin¹⁾ und die andere Gruppe mit Cyclosporin-A²⁾ behandelt. Als zusätzliches immunsuppressives Basismedikament wurde meistens Methylprednisolon³⁾ verabreicht. Zur Beherrschung dennoch auftretender Abstoßungskrisen wurde eine Bolustherapie mit sehr hohen Dosen Methylprednisolon und notfalls eine Therapie mit Anti-Lymphozyten-Globulin (ALG)⁴⁾⁵⁾ oder Anti-Thymozyten-Globulin⁶⁾ verwendet.

1) Imurek, Deutsche Welcome, GmbH

2) Sandimmun, Sandoz AG, Basel, Schweiz

3) Urbason, Höchst AG

4) Kaninchen ALG Merieux

5) Pferde ALG - Pressimmun, Behringwerke

6) ATG - bezogen von Fresenius, München

Z e i t	Azathioprin mg/kg KG/Tag	Methylprednisolon bzw. Prednisolon mg/Tag bei 70 kg KG
intraoperativ	5	500 Methylpred.
1. - 3. Tag	4 bzw. 2 ⁺	120 Prednisolon
4. + 5. Tag	2,5 - 1,5	80 Prednisolon
6. + 7. Tag	2,5 - 1,5	60 Prednisolon
2. Woche	2,5 - 1,5	40 Prednisolon
3. Woche	2,5 - 1,5	36 Prednisolon
4. Woche	2,5 - 1,5	28 Prednisolon
2. Monat	2,5 - 1,5	16 Prednisolon
3. Monat	2,5 - 1,5	12 Prednisolon
Erhaltungs- zeitraum		12 - 8 Pred.

Tabelle 8 : Basistherapie nach allogener Nierentransplantation
Konventionelle Therapie

+) bei Niereninsuffizienz

3.3.2.1 Basistherapie der Azathiopringruppe

Azathioprin wird seit 1963 als Immunsuppressivum nach Transplantationen verwendet. (7, 8) Chemisch gesehen handelt es sich um das Nitroamidazol-derivat des 6-Mercaptopurins. (22) Seine immunsuppressive Potenz wird durch eine Kombination mit niedrigen Dosen Methylprednisolon gesteigert. (30, 46, 54, 76, 114) Tabelle 8 zeigt das bei den Patienten unserer Azathiopringruppe angewendete Basistherapieschema. (Tab. 8) Dabei handelt es sich nur um Richtwerte, da die Dosierung der Transplantatfunktion, dem individuell unterschiedlichen immunsuppressiven Effekt, sowie den Nebenwirkungen angepaßt werden muß. (49)

3.3.2.2 Therapie bei Abstoßungskrisen (Azathioprin-Basistherapie)

Bei Abstoßungskrisen wurde die Immunsuppression mit einer Bolustherapie von 3 mal 500 mg Methylprednisolon verstärkt. (3, 66) Bei Fortbestehen der AR-Symptomatik wurde ein Zyklus von 7 bis 10 Dosen ALG zusätzlich zu Methylprednisolon entsprechend dem Dosierungsschema von Tabelle 9 angeschlossen. (18, 19, 20, 21, 92, 103) Das Dosierungsschema ist wiederum nur als Anhaltspunkt zu sehen, da auch hier entsprechend der individuellen Symptomatik, insbesondere im Hinblick auf Nebenwirkungen, Abweichungen notwendig waren. (109) Daher mußte für jeden Patienten sowohl die Basistherapie, als auch die zusätzliche Abstoßungstherapie festgestellt und protokolliert werden. (Tab.9)

Tag der Abstoßungskrise	Methylprednisolon mg/ Tag	ALG mg/kg KG / Tag
1. - 3. Tag	500 mg	
4. -10. Tag	250 mg	40 mg
10. -13. Tag		40 mg

Tabelle 9 : Immunsuppressive Therapie bei akuter Abstoßung nach allogener Nierentransplantation. (Azathioprin und Methylprednisolon als Basistherapie)

3.3.2.3 Kombination von Cyclosporin-A und Methylprednisolon als Basistherapie

Cyclosporin-A ist ein zyklisches Polypeptid, bestehend aus 11 Aminosäuren. Patienten dieser Gruppe erhielten Cy-A kombiniert mit Methylprednisolon in einer Dosierung, die knapp unter der "Cushing Schwelle" liegt (Tab. 10). (43, 52, 86, 117)

Zeitraum p.Op.	Cy - A mg/kg KG / Tag	Methylprednisolon mg
1. Monat	15	8
2. Monat	13	8
3- Monat	11	8
weitere Reduktion bis		
6. Monat	6	8

Tabelle 10 : Basistherapie der Patienten der kombinierten Cy-A/Methylprednisolon-Gruppe

3.3.2.4 Therapie bei Abstoßungskrisen

In der Cy-A Gruppe wurden drei verschiedene zusätzliche Abstoßungstherapien angewendet. Dazu wurden 3 randomisierte Patientengruppen gebildet. Die erste Gruppe wurde mit einem Kaninchen ALG mit 2,5 mg/kg KG, die zweite Gruppe mit einem Kaninchen ATG (77) mit 4 mg/kg KG und die dritte Gruppe mit einem Pferde ALG in einer Dosierung von 25 mg/kg KG pro Tag behandelt. (Tab. 11) Der Therapieplan dieser Gruppe hatte eine routinemäßige Konversion nach drei Monaten auf Azathioprin vorgesehen. Diese wurde jedoch nur bei 11 Patienten durchgeführt. Alle anderen Patienten dieser Gruppe wurden entsprechend Tabelle 11 behandelt. Auch bei sog. therapierefraktären Abstoßungskrisen wurde konvertiert.

Abstoßungskrise	T h e r a p i e
1. Abstoßungskrise	1 x 500 mg Methylprednisolon i.v./Tag über 3 Tage
2. und 3. Abstoßungskrise bzw. Fortbestehen der 1. und 2. Abstoßungskrise	1) 125 mg Methylprednisolon i.v./Tag über max. 7 Tage 2) ALG/ATG nach Randomisierung (A,B,C-Gruppe) über 7 Tage
4. Abstoßungskrise (bzw. zunehmende Funktions- verschlechterung unter Anti- abstoßungstherapie bei 2. od. 3. Abstoßungskrise, Kreatinin = 5 mg% = Therapierefraktäre Abstoßungskrise)	1) Konversion von Cy-A auf Imurek + 40 mg Methylprednisolon 2) ALG/ATG nach Randomisierung über 7 Tage

Tabelle 11 : Therapie bei akuter Abstoßung nach allogener Nierentransplantation unter Kombination von Cy-A und Methylprednisolon als Basistherapie

3.3.2.5 Cyclosporin-A allein als Basistherapie (Tab. 12)

Im Jahre 1981 wurden zudem einige Patienten im Rahmen einer Multicenter-Cy-A-Studie nur mit Cyclosporin-A als Basistherapie behandelt. Tabelle 12 zeigt das zugehörige Therapie-Schema.

Z e i t	Cy - A mg/kg KG / Tag
intraoperativ	17
1. u. 2. Woche p. Op.	17
ab 3. Woche p. Op.	15
danach in einmonatigen Intervallen Reduzierung um 2 mg/kg KG / Tag	
Erhaltungsdosis über 1 Jahr	6 - 8

Tabelle 12 : Basistherapie nach allogener Nierentransplantation
- Cyclosporin - A - Therapie

3.3.2.6 Therapie bei Abstoßungskrisen (Tab. 13)

Zeit	CY-A	Methylpred. mg/Tag
1. - 3. Tag der Abstoßungskrise	Basisdosis	500
ab 4. Tag der Abstoßungskrise	Basisdosis	250 - 500
Wenn Abstoßungskrise nach 6 g Methylprednisolon nicht überwunden dann Umstellung auf konventionelle Therapie		

Tabelle 13 : Therapie bei akuter Abstoßung nach allogener Nieren-
transplantation - Cy-A-Therapie -

3.3.3 Zusätzliche klinische Daten

Zur weiteren Abschätzung wurden zur immunsuppressiven Therapie zusätzlich die klinischen Parameter eines jeden Patienten zeitlich und abhängig vom postoperativen Tag in den nebenstehenden Auswertungsbogen eingetragen. (Tab. 14)

3.3.4 Kriterien für aus dem Vergleich ausgeschlossene Fälle

Der Vergleich zielt in erster Linie darauf ab, die mit Hilfe der FNB bestimmten Grade zellulärer Abstoßungsreaktion mit klinischen Zeichen von Abstoßung zu korrelieren. Alle Fälle von Organbeeinträchtigung, die nicht mit zellulärer Abstoßungsreaktion in Verbindung zu bringen sind, werden daher von vornherein aus dem Vergleich ausgegliedert und gesondert betrachtet. Von den Pathologen als rein humoral befundene Ereignisse, sowie gesicherte Thrombosen, Niereninfarkte, Pyelonephritiden oder mikrobiologisch gesicherte Virusinfekte wurden gesondert betrachtet. Am Transplantationszentrum München werden alle Patienten routinemäßig auf Virusinfektionen der Herpesgruppe untersucht. In den meisten Fällen wurden monatlich eine Basisserologie und bei klinischem Verdacht einige Spezialuntersuchungen durchgeführt. Erstere setzt sich zusammen aus den Titerbestimmungen der Komplementbindungsreaktionen (KBR) für Herpes Simplex Virus (HSV), Varizella Zoster Virus (VZV) und Cytomegalie Virus (CMV) und einer Bestimmung der IgG-Titer gegen das Epstein-Barr Virus (EBV) Capsid Antigen mit Hilfe eines Immunfluoreszenz Testes (VCA-IgG). Bei den Komplementbindungsreaktionen werden hauptsächlich die IgG, zum Teil auch die IgM Titer erfaßt. Zu den nicht routinemäßig durchgeführten Untersuchungen gehören ein CMV IgM ELISA Test und ein EBV IgM Immunfluoreszenztest (VCA IgM). Die Angaben auf den Untersuchungsformularen der Mikrobiologie dienen für unsere Beurteilung. Als signifikante Veränderungen werden folgende gewertet: (90, 101)

- CMV IgM Titer 1 : 160
- CMV IgM Titer 1 : 40 mit Anstieg des KBR Titers um das vierfache innerhalb von zwei Monaten
- EBV IgM Titer 1 : 32 und Anstieg des IgG Titers um das vierfache
- HSV KBR Titeranstieg um das vierfache.

N A M E : H. M. geb.: 21.03.1931

Datum	23.9	24.9	25.9	26.9	27.9	28.9	29.9	30.9	1.10	2.10	3.10	4.10.81
p. op. Tag	Tx.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11

Klinischer Befund

AR - Grad							II					II
Kreatinin mg/100 ml	8.3	9.9	12.8	10.6	13.3	17.1	12.1	13.9	12.0	12.1	9.6	11.5
Ausscheidung ml/24 h	110	200	210	165	420	210	260	160	230	240	390	630
Organbefund					leicht	vergrößert						
Temperatur °C	37.6	37.9	38.4	37.8	37.8	38.0	37.1	37.2	37.1	37.2	37.2	37.2
Dialyse			+			+		+		+		
Stanzbiopsie												

Medikamente

Methylprednisolon mg	500	120	120	120	80	500	500	500	500	500	250	250
Azathioprin mg/kg KG	5	2	2	2	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
ALG oder ATG mg/kg KG									40	40	40	40
Cy-A mg/ kg KG												

Tabelle 14 : Patientenbogen für klinische Parameter und Therapie

3.3.5 Exakte Kriterien für Vergleich von zellulärer Abstoßungsreaktion in der Feinnadelbiopsie mit klinischem Zustand

Zelluläre Abstoßungsreaktion in der FNB und klinische Charakteristika wurden wie folgt verglichen:

- A) Die FNB Ergebnisse werden, basierend auf dem "C.I.", in die Stufen AR 0 - III eingeteilt.
- B) Die klinischen Ergebnisse werden in "gute" und "schlechte" Klinik, sowie in eine klinisch indifferente Gruppe aufgegliedert. Die Abstoßungsreaktion läuft in erster Linie in Form der Hypersensitivitätsreaktion des verzögerten Typs ab. Sie zeigt frühzeitig Symptome und entwickelt sich innerhalb weniger Tage. (48, 65, 70, 111) Inflammation mit Blastzellen kann meist ein bis zwei, höchstens fünf Tage, vor Beeinträchtigung von Transplantat und Patient durch die Abstoßungsreaktion gefunden werden. Für die Einordnung des jeweiligen Zustandes von Patient und Transplantat, hinsichtlich "guter" oder "schlechter" Klinik, zum Zeitpunkt der FNB-Gewinnung ergaben sich die Kriterien, wie sie in nebenstehender Tabelle 15 genau aufgeführt sind. (Tab.15)

Die Gruppe klinisch indifferenter Fälle umfaßt jene Patienten, die zum Zeitpunkt der FNB wenige Tage nach Transplantation noch anurisch und deshalb dialysepflichtig waren. Wegen Verdacht einer hinzukommenden fraglichen Abstoßungsreaktion, die jedoch mit den üblichen Parametern, wie Rückgang der Ausscheidung oder Anstieg des Kreatinins im Serum, in dieser Phase nicht sicher diagnostiziert werden kann, wurden diese Patienten häufig mit 3 x 500 mg Methylprednisolon behandelt.

Klinischer Zustand	Zeitpunkt der FNB-Gewinnung	Definition von Untergruppen in zeitlicher Korrelation zur Therapie
"gute Klinik"	mindestens 6 Tage vor Therapie einer akuten Abstoßungsreaktion (AR)	mindestens 6 Tage nach und mindestens 6 Tage vor einer weiteren AR-Therapie
	während bereits wirksamer Abstoßungstherapie	höchstens 5 Tage nach und mindestens 6 Tage vor einer weiteren AR-Therapie
"schlechte Klinik"	während noch nicht wirksamer Abstoßungstherapie	klinische Parameter bessern sich bereits innerhalb von mindestens 7 Tagen nach Beendigung des Therapiezyklus keine weitere AR-Therapie
	höchstens 5 Tage vor Therapie einer akuten Abstoßungsreaktion	klinische Parameter weiter schlecht innerhalb von 7 Tagen nach Beendigung des Therapie-Zyklus folgt eine weitere AR-Therapie
	Transplantataufgabe bzw. Explantation	höchstens 5 Tage nach und höchstens 5 Tage vor einer weiteren AR-Therapie mindestens 6 Tage nach und höchstens 5 Tage vor einer weiteren AR-Therapie AR-Therapie abgesetzt bzw. FNB-Gewinnung aus explantierter Niere

Tabelle 15 : Kriterien für Einordnung des klinischen Zustandes zum Zeitpunkt der FNB-Gewinnung

3.4 Coulter-Counter-Messung der FNB

Ziel der Untersuchungen war:

- a) in jedem Aspirat exakt den Betrag von kontaminierendem Blut und seinen Leukozyten im Verhältnis zu den tatsächlich inflammatorischen Zellen zu bestimmen,
- b) dadurch die Zusammensetzung der infiltrierenden Zellen allein zu erhalten,
- c) die Beteiligung der Granulozyten im Transplantat zu untersuchen und
- d) die Bewertbarkeit von Aspiraten exakter zu beurteilen.

3.4.1 Prinzip der Arbeitsweise des Coulter Counters

Das Prinzip der Arbeitsweise des Coulter Counters¹⁾ ist einfach. (1, 91)
Die zu zählenden Teilchen werden in einer leitenden Flüssigkeit²⁾ gelöst und in einem entsprechenden Gefäß (A) auf die Probenplattform gestellt. (Abb. 2) Eine Meßröhre (B) mit einer kleinen Öffnung an der Seite wird in die Probenflüssigkeit eingetaucht. Zwei Elektroden stehen in Kontakt mit dieser Flüssigkeit. Eine geerdete Elektrode befindet sich in der Röhre, eine zweite liegt an der Außenseite der Röhre an. Ein Quecksilber-Manometer (C) steht in direkter Verbindung mit der Meßröhre. Dieses Meßinstrument wird benötigt, um eine fest definierte Menge der Probe bestimmen zu können, die während einer Messung durch die Öffnung der Meßröhre gesaugt wird. Eine Vakuumpumpe sorgt dafür, daß die Druckdifferenz erzeugt wird, die notwendig ist um Flüssigkeit durch die Öffnung zu saugen.

1) Coulter Counter Model ZM, Coulter Electronics GmbH
Krefeld, Bestellnummer 9942204

2) Isoton II azidfreies, gefiltertes isotonisches Verdünnungsmittel,
das auf einer Salzlösung basiert, Coulter Electronics GmbH, Krefeld,
20 l-Kanister oder 4 x 5 l-Kanister
Bestellnummer E 6600719 oder 996456

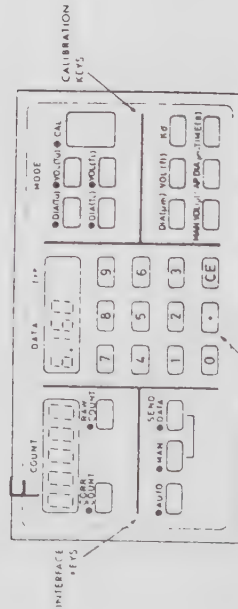
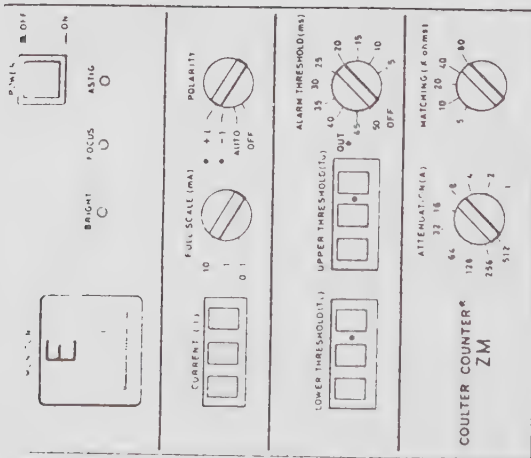


FIG 3-2 7M FRONT PANELS

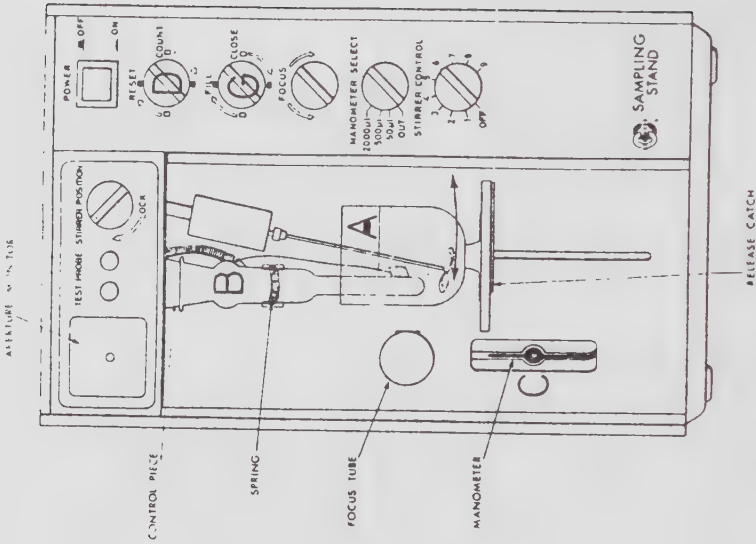


FIG 3-4 SAMPLING STAND FRONT VIEW

Abbildung 2 :

Frontansicht des elektronischen Meßgerätes (3-2) und des Probenbearbeitungsgerätes (3-4) übernommen aus der Bedienungsanleitung Coulter-Counter-Model ZM

Bei Stellung des Drehknopfes (D) auf Reset, ist das Vakuum an die Meßröhre und den Quecksilbermanometer angelegt. Daraus folgt, daß Flüssigkeit in die Meßröhre gesaugt wird und außerdem die Quecksilbersäule sich, dem aufgebauten Druck folgend, zurückbewegt. Hat die Quecksilbersäule den Startkontakt erreicht wird der Strom, der an den beiden Elektroden angelegt ist, eingeschaltet und Oszillograph (E) und Zählwerk (F) leuchten auf. Die angelegte Stromstärke wird konstant gehalten. Gelangt ein Teilchen zwischen die beiden Elektroden folgt daraus eine Widerstandsänderung und dadurch eine Spannungsänderung, die als Impuls gezählt wird. Deren Höhe hängt vom Volumen des Teilchens ab. Bei Stellung des Drehknopfes (D) auf Count wird das angelegte Vakuum von der Meßröhre und dem Manometer abgeschaltet. Die Quecksilbersäule bewegt sich dem atmosphärischen Druck folgend zurück und Flüssigkeit wird durch die Öffnung gesaugt. Erreicht die Quecksilbersäule den Startpunkt, wird die Zählung begonnen und die Teilchen werden solange registriert, bis die Quecksilbersäule den Volumenkontakt erreicht, der zuvor eingestellt wurde. Im Falle dieser Zählungen werden jeweils 0,5 ml Probe pro Messung gewertet. Die darin enthaltene Teilchenzahl wird bestimmt und zusätzlich kann durch die Größe der jeweiligen Impulse auch das Volumen der entsprechenden Teilchen gemessen werden. (38, 51, 91)

3.4.2 Eichen des Gerätes

Vor Inbetriebnahme des Gerätes wird ein Flüssigkeitsbehälter mit Isoton II gefüllt. Durch die Vakuumpumpe wird bei Messungen und Spülungen die Flüssigkeit angesaugt und in ein leeres Gefäß transportiert. Anschließend werden Zählgerät und elektronisches Beigerät in Betrieb genommen. Das Eichblut¹⁾, das zuvor zwei Stunden gründlich auf einem Rüttler²⁾ gemischt wurde, wird nun mit Isotonflüssigkeit exakt 1 : 500 verdünnt und in ein großes Meßglas gefüllt. Diese Verdünnung dient anschließend zur Messung der weißen Blutkörperchen. Die weitere Verdünnung von 1 : 100 dient nun der Messung der roten Blutkörperchen. (15) Dieses Meßglas wird anschließend in den Coulter Counter gestellt. Ein elektrischer Rührer hält die Zellen im Fließen während der folgenden vielen Messungen. Die Meßröhre muß tief in die Flüssigkeit eintauchen. Das Gerät wird wie in Punkt 3.4.1 beschrieben in Betrieb genommen. Mit Hilfe der verschiedenen Einstellungen wie Current, Full Scale, Attenuation am elektronischen Meßgerät können Stromstärke und Spannung, die an den Elektroden der Meßröhre angelegt sind, und die Größe der verschiedenen Impulse beliebig verstärkt werden. Wichtigste Aufgabe ist es, mit Hilfe dieser verschiedenen Regelgrößen eine Einstellung zu finden, bei der die Größe der Impulse in einem für das Gerät mittleren Bereich liegen. Dies geschieht durch Kontrolle am Oszilographen, solange bis die mittlere Verteilungsdichte der Meßausschläge ca 15 - 20 mm hoch ist. Rote Blutkörperchen des Kontrollblutes werden bei Current 800, Full Scale 1, Attenuation 1/4 und Matching Constante 20 bei einem Durchmesser der Meßröhrenöffnung von 100 µm und Polarity I + gemessen.

Zur Eichung wurde die "Schrittmethode" angewandt. Mit Hilfe der Einstellung für "Lower und Upper Threshold" ist es möglich einen gewissen Volumenbereich auszublenden, so daß das Gerät nur Teilchen registriert und zählt, die mit ihrem Volumen in diesen Bereich fallen. (13, 51) In Zweier-Schritten wird von 0 - 2 / 2 - 4 / 4 - 6 usw. bis zur EndEinstellung 99,9 in jedem Bereich die Anzahl der Impulse gemessen. Nach Ablauf jeder Messung wird der statistisch korrigierte Zählbetrag (Corrected Count) auf der Skala abgelesen und notiert. (51, 91)

1) Eichblut: Omnitrol Hematology Reference Control (Normal and Abnormal)
Dual Pac - Clay Adams Division of Becton Dickinson and Company
Parsippany N.J. 07054 - Rec.No. 2481

2) Rüttler: Adams Nutator Clay Adams w.o. Model No. 1106

Die Eichung ergibt folgende Kurve für die roten Blutkörperchen (RBC.) (Tab. 16)

Auf der Ordinate sind die jeweiligen Zweier-Schritte von "Lower und Upper Threshold" aufgetragen. Auf der Koordinate liegt die Anzahl der gezählten Zellen bzw. Teilchen. Man erkennt, daß sich in einem unteren Bereich relativ hohe Zählungen ergeben. Dies entspricht dem sogenannten Rauschen. Unter diesen gezählten Teilchen befinden sich vor allem zerstörte Zellen und Staubteilchen. Dann wird die Anzahl der Zellen geringer und nähert sich fast 0. Ab hier steigt die Anzahl der gezählten Zellen gleichmäßig an, bis sie ein Maximum bei Threshold 31 erreicht. Dieser Wert entspricht der mittleren Größe der roten Blutkörperchen des Eichblutes, bei der die meisten Zellen gezählt werden. Ab hier nehmen die Zählungen kontinuierlich ab und nähern sich bei ca 60 wieder 0. Für die Messungen der Zellen sollen verständlicherweise zerstörte Teilchen und Staub nicht erfaßt werden. Folglich wird in unserem Fall als untere Grenze ein Threshold von 16 gewählt, der diese Teilchen aus der Messung ausschließt. Nach oben wird das Volumen nicht begrenzt und ein Upper Threshold von 99,9 eingestellt, damit alle Zellen erfaßt werden. Die, in 0,5 ml 1 : 50 000 verdünnten Blutes, gezählten Zellen werden mit 100 multipliziert. Der so mit dem Coulter Counter gefundene Wert von Erythrozyten pro mm³ Blut stimmt exakt mit den Angaben des Eichblutes überein. Zusätzlich wird das Gerät mit Hilfe der Eichkurve auf das mittlere Volumen der Erythrozyten kalibriert. So kann bei Bedarf jederzeit die Größe gemessener Teilchen bestimmt werden.

Anschließend erfolgt die Eichung für die weißen Blutkörperchen in gleicher Weise. (1, 108) Die vorbereitete Verdünnung von 1 : 500 muß dazu mit einigen Tropfen Zaponin bzw. Zapoglobin¹⁾ hämolysiert werden. (1, 9, 39, 91, 108) Die folgenden Schritte entsprechen dem Vorgang für die Eichung der Erythrozyten. Das Ergebnis wird in der nächsten Tabelle 17 dargestellt. Für die Zählung roter und weißer Blutkörperchen kann die gleiche Einstellung gewählt werden. Auch das Ergebnis der Leukozytenmessung entspricht der Angabe des Eichblutes. (Tab. 17) Vor und jeweils nach einigen Messungen wird eine Kontrolle mit reiner Isotonlösung durchgeführt. Der Leerwert darf 100 nicht überschreiten. Mit der gefundenen Einstellung werden die folgenden Messungen gemacht.

1) Zapoglobin, bezogen über Coulter Electronics GmbH, Krefeld (5 x15ml)

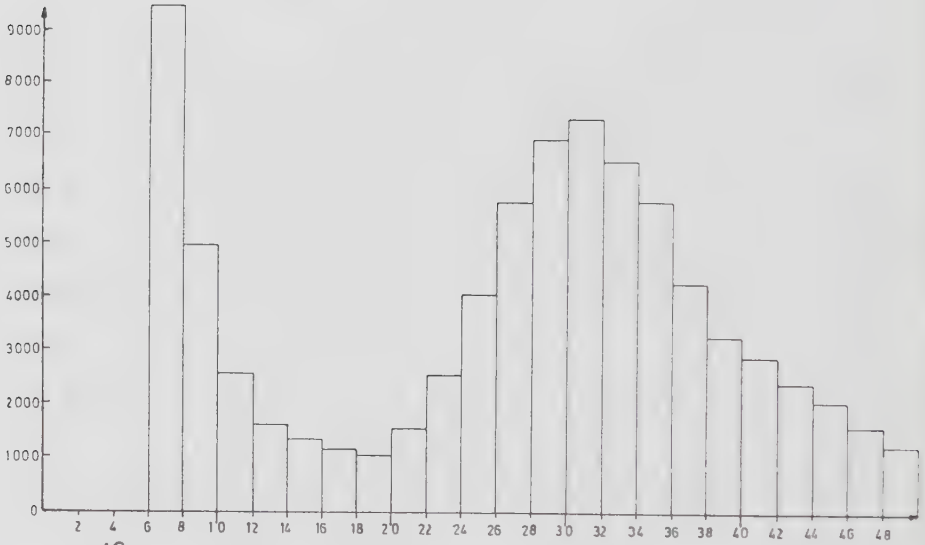


Tabelle 16: Eichkurve für Erythrozyten

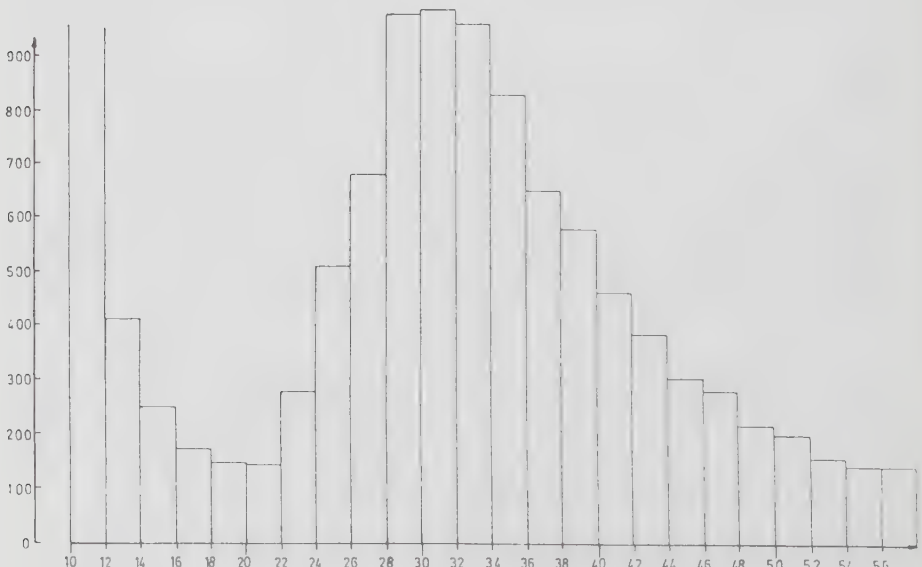


Tabelle 17: Eichkurve für Erythrozyten

3.4.3 Durchführung der Messung

Zur Messung werden 20 ml Probenflüssigkeit in einen kleinen Meßbecher¹⁾ abgefüllt. Damit der Zählbereich in einer Spanne liegt, in der der Coulter Counter exakt zählt, müssen die Proben der FNB und des p.B. für die Zählung der Leukozyten etwa 1 : 10 bis 1 : 20, je nach Dichte des Originals, mit Isoton verdünnt werden. Davon werden etwa 20 µl mit Hilfe einer Auslaufpipette in den Meßbecher gefüllt. Mit einem elektrischen Dilutor²⁾ wird für die Zählung der Erythrozyten die erste Verdünnung exakt nochmals 1 : 100 verdünnt. (37) Drei Messungen zur Bestimmung der Zahl von Erythrozyten werden durchgeführt. Vor und zwischen jeder Meßserie muß als Kontrolle eine Messung mit reiner Isotonflüssigkeit zur Prüfung des Leerwertes gemacht werden. Zur Messung der Leukozyten werden ca. 5 Tropfen der hämolysierenden Substanz Zaponin oder Zapoglobin in den ersten Meßbecher getropft, leicht vermischt und einige Sekunden gewartet bis die Hämolysse eingetreten ist. Wie bei der Bestimmung der roten Blutkörperchen werden in gleicher Weise drei Messungen bei der Zählung der weißen durchgeführt. Drei solcher Einzelmessungen dürfen nicht mehr als 5 % vom Mittelwert abweichen und müssen größer als 1 000 sein, um für die Auswertungen Gültigkeit zu haben.

3.4.4 Rechenweg

Das Verhältnis von Leukozyten pro Erythrozyten im peripheren Blut und von Leukozyten und Nierengewebszellen pro Erythrozyten in der FNB wird berechnet. Diese Ergebnisse werden zur einfacheren Verarbeitung und für weitere Berechnungen auf den gemeinsamen Nenner von 1 Million Erythrozyten umgerechnet. Wichtig ist nicht die absolute Zahl, sondern nur das Verhältnis von weißen zu roten Zellen. In der FNB muß noch die Zahl der Nierengewebszellen berücksichtigt werden. Dies geschieht durch mehrmalige, sorgfältige Zählung der Anzahl der NGZ pro 100 Leukozyten in den gefärbten Präparaten unter dem Mikroskop. Die Umrechnung erfolgt laut Dreisatz wie in Tabelle 18 dargestellt. (Tab. 18)

1) Meßbecher bezogen über Coulter Electronics GmbH, Krefeld

2) Dual Diluter III, Coulter Electronics GmbH, Krefeld

Bestell-Nr. 99 42 127

Beispiel: FNB Nr. 755

FNB		p.B.	
<u>Erys</u>	<u>Leukos</u> <u>+ NGZ</u>	<u>Erys</u>	<u>Leukos</u>
505 000	4 167	857 800	1 545
507 100	4 277	850 900	1 529
509 500	4 219	835 000	1 557
Mittelwert			
507 200	4 221	847 900	1 544

das ergibt:

8 320 Leukos + NGZ / 10^6 Erys 1 820 Leukos / 10^6 Erys
in der FNB im p.B.

Zytologischer Befund in der FNB: 60 NGZ / 100 Leukos

daraus folgt: $\frac{8\,320}{160} \cdot 100 = 5\,200$ Leukos / 10^6 Erys

Faktor: $\frac{5\,200 \text{ Leukos} / 10^6 \text{ Erys}}{1\,820 \text{ Leukos} / 10^6 \text{ Erys}} = 2,9$

Tabelle 18: Coulter Counter Berechnung

Das Ergebnis ist die Anzahl von Leukozyten pro 1 Million Erythrozyten in der FNB und im peripheren Blut. Unter der noch zu belegenden Annahme, daß das durch die Niere fließende Blut in etwa das gleiche Verhältnis von Leukozyten zu Erythrozyten wie das p. B. aufweist, und im Nierenparenchym keine Erythrozyten aufzufinden sind, (71) gelten folgende Überlegungen:

Wenn, wie im Beispiel von Tabelle 18, im peripheren Blut laut Coulter Counter pro 1 Million Erys 1 820 Leukos bestimmt werden und in der FNB 5 200, müssen von den 5 200 Leukos im Aspirat folglich 1 820 aus dem Blut stammen und die zusätzlichen 3 380 wirklich inflammatorische Leukozyten sein. Der berechnete Faktor von Leukozyten pro 1 Million Erythrozyten zwischen FNB und peripheren Blut gibt daher an, wie groß in jeder FNB der Anteil der Blutkontamination ist. Ein Faktor von 2,9 bedeutet z. B., daß 1 Teil der Leukozyten aus dem Blut stammt und fast 2 Teile wirklich aus der Niere sein müssen. Ein Faktor von 1 würde bedeuten, daß alle Leukozyten aus dem Blut sind, die FNB somit nur aus Blut besteht.

4. ERGEBNISSE

4.1 Feinnadelbiopsie

4.1.1 Bewertbare - nicht bewertbare FNB

In die vorliegende Bewertung gehen insgesamt 505 FNB, durchgeführt von Juli 1981 bis Oktober 1982, ein. Von diesen 505 Aspiraten sind 373 (aus insgesamt 117 verschiedenen Transplantaten) bewertbar, 132 fraglich oder nicht bewertbar. Von den 373 bewerteten Proben stammen 4 aus explantierten Nieren, zu denen keine periphere Blutprobe zusätzlich verfügbar war, und so die vollständige Auswertung nicht durchgeführt werden konnte. Es bleiben 369 ausgewertete Präparate. Von den 132 nicht bewerteten sind 46 fraglich beurteilbar, d. h. sie haben ca 5 - 10 NGZ / 100 Leukozyten. 86 Aspiarte sind nicht bewertbar. Der Großteil dieser Fälle sind zu nasse oder nicht getroffene Aspiarte mit gar keinen oder nur vereinzelt NGZ. Einige Sonderfälle nicht bewertbarer FNB sind solche aus Lymphozelen (n=2) oder Nekrosebezirken (n=1) transplanierter Nieren. Einige Aspiarte konnten wegen pH-Verschiebung zu lang gelagertem Nährmediums oder wegen zu langer und falscher Aufbewahrung der gewonnenen FNB nicht mehr ausgewertet werden (n=11). Folgende Tabelle 19 zeigt, daß insgesamt 74 % der durchgeführten FNB bewertbar und 26 % nicht sicher zu beurteilen sind. (Tab.19)

Bewertbarkeit	FNB's (n)	in %
bewertbar	373	74
fraglich bewertbar	46	9
nicht bewertbar	86	17
Summe:	505	100

Tabelle 19 : Bewertung der FNB

4.1.2 Gradeinteilung der akuten zellulären Abstoßungsreaktion

Die Verteilung der 369 bewertbaren FNB auf die verschiedenen Grade zellulärer Abstoßungsreaktion ist in der nächsten Tabelle aufgelistet. (Tab.20)

Grad akuter zellulärer Abstoßungsreaktion AR	FNB (n)	in %
AR 0	121	33
AR 0 - I	54	15
AR I	67	18
AR I - II	36	10
AR II	66	18
AR II - III	17	4
AR III	8	2
Summe:	369	100

Tabelle 20: Verteilung der FNB auf die verschiedenen Abstoßungsgrade

4.1.3 Corrected Increment-Größen in den verschiedenen AR-Graden

Wie unter Punkt 3.1.5 beschrieben, wird die Stärke zellulärer Transplantatreaktion mit Hilfe des korrigierten Inkrements bestimmt. Die nächste Tabelle zeigt die Höhe dieser Corrected Increments in der entsprechenden Stufe der Abstoßungsreaktion. Die Standardabweichungen geben einen Anhalt für die Variationsbreite des C.I. innerhalb der einzelnen Grade. (Tab. 21)

AR	0	0 - I	I	I - II	II	II-III	III
Corrected Increment ^m	0,43	1,17	1,91	2,58	4,22	7,67	10,93
Standardabweichung [±]	0,48	0,41	0,59	0,71	1,2	2,36	4,34

Tabelle 21 : Korrelation von Corrected Increment [±] Standardabweichung und akuter Abstoßungsreaktion (AR)

4.1.4 Unterschiedliche Färbeergebnisse

Die Färbung nach Pappenheim ist unproblematisch. Bei genau eingehaltener Färbetechnik sind die Inflammations- und Parenchymzellen gut differenzierbar, wie in Punkt 4.1.5 beschrieben wird. (68, 135)

Mit Hilfe der Peroxidase-Färbung werden enzymaktive Stellen braun gefärbt. Granulozyten sind stark positiv, Monozyten schwach positiv, Lymphozyten und Nierengewebszellen negativ. Diese Färbung hilft bei der Differenzierung von Makrophagen und stark geschädigten Tubuluszellen, wie man es bei akuter Tubulusnekrose findet.

Die modifizierte zytologische Standardfärbung nach Szczepanik "Zytocolor" stimmt im Färbebild mit der Papanicolaou Färbung überein:

basophiles Zytoplasma färbt sich blau, grün

eosinophiles Zytoplasma färbt sich rosa

Zellkerne blau, dunkel violett, braun, schwarz.

Diese Färbung hilft bei der Diagnose von Nierengewebszellen, deren Zytoplasma sich intensiv rot färbt und sich damit von Monozyten bzw. Makrophagen, die blaugrünes bis leicht rosa Plasma aufweisen, abheben.

4.1.5 Unterschiedliche Zellpopulationen im p. B. und in der FNB

Folgende Zellen werden im peripheren Blut lichtmikroskopisch unterschieden:
(14, 75, 111, 125, 135)

Metamyelozyten (Juvenile): Die Zellgröße beträgt 12 - 16 µm. Der Zellkern ist länglich, wurstförmig gewunden, mit beginnender Pyknose und grobscholligem Chromatin, das sich rötlich-violett anfärbt. Das Cytoplasma ist blaßrosa tingiert und weist entsprechend der Funktion spezifische neutrophile, basophile oder eosinophile Granula auf. Diese bedingen die Einteilung in neutrophile, basophile und eosinophile Metamyelozyten.

Stabkernige Granulozyten: Die Zellgröße liegt zwischen 10 und 15 µm. Der Zellkern ist stabförmig, unregelmäßig gebogen mit Schnürfurchen bis zu 1/3 der durchschnittlichen Kerndicke. Das Chromatin ist grobkörnig bis schollig strukturiert und färbt sich rötlich-violett. Das Cytoplasma ist blaßrosa mit feinen Granula. Differenziert werden je nach Granulation neutrophile, basophile und eosinophile stabkernige Granulozyten.

Neutrophile, Segmentkernige Granulozyten: Die Zellgröße beträgt 10 - 15 µm. 2 bis 5 Segmente des Zellkerns sind über fadenförmige Brücken miteinander verbunden. Das Chromatin ist grobkörnig bis grobschollig und färbt sich rötlich-violett. Das Cytoplasma ist blaßrosa mit neutrophilen Granula, die bei toxischer Granulation deutlich grau-blau in Erscheinung treten.

Eosinophile Granulozyten: Die Zellgröße variiert zwischen 11 und 16 µm. Der Zellkern wird von 2 - 3 Segmenten gebildet, die fadenförmig miteinander verbunden sind. Das Chromatin ist rötlich violett und pyknotisch. Das hellrosa Cytoplasma ist mit zahlreichen kleinen orange-roten, bläschenartigen Granula angereichert.

Basophile Granulozyten: Die Zellgröße schwankt zwischen 9 und 14 µm. Der Zellkern weist meist 2 - 3, über Kernbrücken miteinander in Verbindung stehende Segmente auf. Das hellrosa Cytoplasma ist dicht angereichert mit tief blauen Granula, die zum Teil den Zellkern überlagern.

Kleine Monozyten: Die Zellgröße beträgt ca 15 µm. Der Zellkern ist oval- bis wurstförmig mit feinretikulärer Struktur. Er liegt meist zentral. Das mäßig vorhandene Cytoplasma ist matt bläulich-grau.

Große Monozyten: Die Zellgröße beläuft sich auf ca 20 µm. Der Zellkern ist vorwiegend nierenförmig und randständig, zum Teil aber auch vielgestaltig gelappt. Das reichlich vorhandene Protoplasma färbt sich graublau und weist häufig Vakuolen auf.

Kleine Lymphozyten: Die Zellgröße erstreckt sich von 7 - 10 µm und hat eine runde Gestalt. Der bohnenförmige Zellkern färbt sich tief dunkelblau und füllt nahezu die Zelle aus. Das Chromatin ist dicht, rissig oder retikulär strukturiert. Der meist nur einseitig schmal vorhandene Protoplasmasaum ist deutlich basophil.

Große Lymphozyten: Die Zellgröße beträgt 10 - 16 µm. Der ovale Zellkern ist meist exzentrisch gelegen; er weist ein kompakt schollig-retikulär strukturiertes Chromatin auf. Das Cytoplasma ist reichlich vorhanden und im Vergleich zum Kleinen Lymphozyten intensiver basophil. Kleinste Vakuolen bedingen eine perinukleäre Aufhellung.

Große Granulierte Lymphozyten: Die Größe dieser Zellen liegt zwischen 15 und 18 µm. Der Zellkern ist meist nierenförmig mit schollig-retikulärem Chromatin. Im Bereich der Kerneinbuchtung tritt neben einer perinukleären Aufhellung eine azurophile Granulation auf. Diese Zellen entsprechen mit großer Wahrscheinlichkeit den natürlichen Killer Zellen.

Plasmazellen: Die Zellgröße liegt zwischen 7 und 15 µm. Der Zellkern zeigt eine sehr dichte radspeichenartige Struktur bei meist exzentrischer Lage. Das Cytoplasma ist tiefblau, überwiegt mengenmäßig gegenüber dem Zellkern und ist ohne Granulation. Eine perinukleäre Aufhellungszone ist deutlich abgrenzbar. Vakuolen sind häufig vorhanden.

Lymphatische Reizformen: Die Zellen haben einen Durchmesser von 10 - 18 μm . Es erfolgt eine Auflockerung der scholligen Chromatinstruktur des Zellkerns gegenüber den Lymphozyten. Gelegentlich werden Nukleoli erkennbar. Ebenso nimmt das Cytoplasma zu, wird weitläufig und stärker basophil. Die Lymphatischen Reizformen werden den Monozyten ähnlich, sind jedoch von diesen aufgrund des scholligen Chromatins und des basophil angefärbten Plasmas abzugrenzen.

Lymphoblasten: Bei starker Stimulation erfolgt eine Transformation der Lymphozyten zu Blasten mit Zunahme der Zellgröße bis zu 30 μm . Der rundliche, große Kern zeigt eine aufgelockerte Struktur. Ein hell bläuliches Cytoplasma läßt einen T-Zell-Blasten vermuten.

Plasmablasten: Die Zellen entsprechen morphologisch im wesentlichen den Lymphoblasten. Die Zuordnung erfolgt aufgrund des intensiv basophil, tiefblauen Cytoplasmas.

Zusätzlich werden in der FNB die folgenden Nierengewebszellen differenziert:

Endothelzellen: Sie entstammen mittleren und kleineren Gefäßen des Transplantates, meist Kapillaren. Der Zelldurchmesser beträgt bis zu 30 μm . Der rundliche bis oval geformte Kern färbt sich zart rötlich-violett, das Chromatin ist grobkörnig locker strukturiert mit bis zu 4 deutlich sichtbaren Nukleoli. Das Cytoplasma ist weitläufig, zart rosa und die Zellgrenzen teilweise nicht eindeutig abgrenzbar.

Proximale Tubuluszellen: Die Zellgröße der Tubuluszellen des proximalen Konvoluts entspricht in etwa jener großer Lymphozyten. Der Zellkern ist dunkel basophil, das Chromatin netzig strukturiert mit deutlich abgrenzbaren Nukleoli. Der Zellkern ist meist exzentrisch basal gelegen. Das Cytoplasma färbt sich tief basophil; es ist feinkörnig strukturiert.

Distale Tubuluszellen: Die Zellgröße beträgt 20 - 25 μm . Im Vergleich zu der Tubuluszelle des proximalen Konvoluts ist die distale Tubuluszelle sowohl im Cytoplasma, als auch im Zellkern heller basophil; Zellkern und Cytoplasma sind vergleichsweise ausladender. Der Zellkern ist meist zentral gelegen und weist eine aufgelockerte Chromatinstruktur mit deutlichen Nukleoli auf. Aufgrund der teilweise vorhandenen azurophilen Granulation des Cytoplasmas werden große granulierte und große nicht granulierte Tubuluszellen differenziert.

Gewebsmakrophagen: Der Zelldurchmesser beträgt 15 - 25 μm . Der Zellkern ist groß, meist gebuchtet, gelappt oder polymorph; er ist locker strukturiert. Neben chromatinarmen Bereichen finden sich Verdichtungszone, sowie häufig Vakuolen. Das Cytoplasma ist meist unregelmäßig begrenzt; es färbt sich hellgrau bis leicht violett und zeigt rötliche Granula. Cytoplasmatische Einschlußkörper und Vakuolen sind typisch und entsprechen phagozytiertem Zellmaterial.

4.2 Vergleich FNB - Stanzbiopsie

4.2.1 Nicht verwertbare und vergleichbare Paare

In 120 Fällen wurde gleichzeitig eine Stanzbiopsie und eine Feinnadelbiopsie durchgeführt. In 78 Fällen sind sowohl FNB als auch Stanzbiopsie verwertbar und miteinander vergleichbar. Tabelle 22 zeigt außerdem die Gründe der 42 nicht verwertbaren oder vergleichbaren Paare (Tab. 22).

In 26 Fällen war die FNB entsprechend den Ausführungen unter Punkt 4.1.1 nicht oder fraglich bewertbar. Sechsmal war die Stanzbiopsie nicht erfolgreich, weil im einzelnen Skelettmuskulatur, ein Nekrosebezirk, die Nierenpapille und 3 mal überhaupt kein Parenchym biopsiert wurde. In 5 Fällen waren weder Stanzbiopsie noch Feinnadelbiopsie verwertbar. Die entsprechenden Aspirate waren zu naß und einmal war ein Hämatom getroffen. In den dazugehörigen Stanzbiopsien wurde in allen 5 Fällen kein Parenchym gefunden. Schließlich konnten in 5 Fällen die Befunde von FNB und Stanzbiopsie nicht verglichen werden, da die Beurteilung der Stanzbiopsien keine eindeutige Aussage über die Stärke zellulärer Transplantatreaktion zuließ. Die Befunde der Pathologen lauteten im einzelnen: chronische, zelluläre Infiltrate, chronische Abstoßungsreaktion, zelluläre Transplantatreaktion, interstitielle Entzündung und Pyelonephritis.

Bewertbarkeit von FNB und Nierenbiopsie	Anzahl (n)	
verwertbare P a a r e	78	
FNB nicht verwertbar	26	42
Nierenbiopsie nicht verwertbar	6	
FNB und Nierenbiopsie nicht verwertbar	5	
FNB und Nierenbiopsie nicht vergleichbar	5	
Summe:	120	

Tabelle 22: Bewertbarkeit von FNB und Nierenbiopsie

4.2.2 Grad der Korrelation von FNB und Stanzbiopsie

78 Fälle gleichzeitig durchgeführter FNB und Stanzbiopsie waren verwertbar und vergleichbar. Gemäß den Auswertungskriterien unter Punkt 3.2.1 ergeben sich folgende Korrelationen: (Tab. 23)

In 22 Fällen (28 %) besteht eine vollständige Übereinstimmung in der Auswertung beider Methoden.

In 29 Fällen (37 %) weichen die Bewertung der FNB und der Stanzbiopsie um einen halben Grad voneinander ab. Faßt man diese Fälle mit praktisch vollständiger Übereinstimmung der Ergebnisse beider Methoden zusammen, ergibt sich eine Korrelation von 65 %.

Bei 17 Biopsiepaaren (22 %) besteht eine Diskrepanz zwischen FNB und Stanzbiopsie um 1 Grad. In 12 dieser Fälle zeigt sowohl FNB als auch Stanzbiopsie eine zelluläre Transplantatreaktion, die jedoch in der Höhe um 1 Grad differieren. In 4 Fällen hingegen ergibt die FNB Grad 0, die Stanze dagegen eine leichte ZTR Grad I. In einem Fall zeigt das Ergebnis der Stanzbiopsie keinen Hinweis einer ZTR, die FNB hingegen eine AR I.

Somit ergibt sich bei dieser ersten Auswertung in 87 % eine gute Korrelation von FNB und Stanzbiopsie bezüglich zellulärer Inflammation.

Nur 10 Fälle (13 %) weichen um mehr als 1 Grad und somit beträchtlich voneinander ab. Achtmal zeigen wiederum sowohl FNB als auch Stanzbiopsie eine zelluläre Infiltration von mindestens Grad I, jedoch unterschiedlicher Stärke auf. In zwei Fällen ist in der FNB kein Anhalt für ein zelluläres Ereignis, in der Stanzbiopsie hingegen findet man eine AR I - II bzw. II.

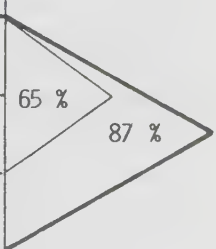
Grad der Übereinstimmung	Anzahl (n)	in %	
vollständige Übereinstimmung	22	28	
Abweichung 1/2 Grad	29	37	
Abweichung 1 Grad	17	22	
Abweichung > 1 Grad	10	13	
Summe	78	100	

Tabelle 23: Vergleich von akuter, zellulärer Abstoßungsreaktion in FNB und Stanzbiopsie

4.3 Vergleich - FNB - Klinik

4.3.1 Klinische Probleme - Ursache keine akute zelluläre Abstoßungsreaktion

In Tabelle 24 sind die Fälle aufgeführt, die aufgrund der Befunde der Mikrobiologie und mit Hilfe der monoklonalen Antikörper als sichere, virale Infekte diagnostiziert werden konnten. Die obere Spalte enthält die Gesamtzahlen aller Aspirate in der jeweiligen Gruppe, eingeteilt nach Abstoßungsgraden. Diese Zahlen sollen zeigen, wie oft zelluläre Inflammationen zusammen mit Virusinfektionen auftraten.

Von 121 Aspiraten ohne jegliche Inflammation bewiesen in 6 Fällen die serologischen Befunde eine Virusinfektion. Die kompletten Zahlen von vorkommenden Virusinfektionen können der Tabelle 24 entnommen werden. Zu beachten sind die Fälle gesicherter Virusinfektionen, die mit relativ hohen Inflammationen verbunden sind. So sind z.B. von 66 Aspiraten mit einer zellulären Inflammation Grad II 12 FNB in einer Phase eines bestehenden Infektes gewonnen worden. (Tab. 24)

AR	0	0 - I	I	I - II	II	II-III	III	Summe
FNB (n)	121	54	67	36	66	17	8	369
Virus (n)	6	1	6	8	12	4	0	37

Tabelle 24: Anzahl von FNB im Zeitraum gesicherter Virusinfektion im Vergleich mit der Gesamtzahl von FNB in der jeweiligen AR-Gruppe

6 Stanzbiopsien bewiesen humorale Abstoßungsreaktionen. Auf Grund des schlechten klinischen Zustandes wurden die Patienten auf Abstoßung behandelt. Diese hochdosierte immunsuppressive Therapie hatte jedoch keinen Einfluß auf den Verlauf der Abstoßungsreaktion. Die Aspirate zeigten in diesen Situationen viermal Abstoßung Grad 0 und zweimal 0 - I.

Zwei Patienten wurden wegen auffälliger "Klinik" behandelt, obwohl in den 4 durchgeführten Aspiraten keine mononukleäre Inflammation auftrat. Hier konnte auf Grund klinischer und pathologischer Befunde gesichert werden, daß nicht zelluläre Abstoßungsreaktionen Ursache des schlechten Zustandes waren, sondern einmal eine Pyelonephritis und einmal ein Polinfarkt.

In den 47 oben angeführten Fällen waren somit nicht zelluläre Abstoßungsreaktionen Ursache für das schlechte Befinden. Diese Aspirate anderer klinischer Probleme sind aus dem folgenden Vergleich, der die Übereinstimmung zellulärer Inflammation mit dem klinischen Bild einer Abstoßung aufzeigt, ausgegliedert. Der Vollständigkeit halber bleibt noch zu erwähnen, daß zu 5 Aspiraten keine klinischen Daten vorlagen, da die FNB ambulant durchgeführt wurde.

4.3.2 Unsichere klinisch akute zelluläre Abstoßungsreaktion

21 FNB gehören der Gruppe an, die klinisch nicht sicher zu beurteilen ist. Diese Fälle, wie in Punkt 3.3.5 genau beschrieben, umfassen Patienten in der ersten postoperativen Zeit. Wegen einer akuten Tubulusnekrose hatte die Niere noch nicht zu arbeiten begonnen. Die Patienten waren deshalb zum damaligen Zeitpunkt noch dialysepflichtig. Obwohl sie sonst unauffällig waren und keinen Anhalt für ein akutes Geschehen aufwiesen, wurden sie jedoch oft mit 3 mal 500 Methylprednisolon behandelt, um sicher zu gehen, keine hinzukommende zelluläre Abstoßungsreaktion zu übersehen. Die Verteilung der Abstoßungsgrade dieser Fälle zeigt die nächste Tabelle 25 (Tab. 25).

AR	0	0 - I	I	I - II	II	II-III	III	Summe
FNB (n)	11	3	3	1	3	-	-	21
Patienten (n)	11		6					17

Tabelle 25: Fälle unsicherer Klinik

Die insgesamt 21 Aspiarte stammen von 17 Patienten. Bei 11 dieser Patienten war die Behandlung mit 3 mal 500 mg Methylprednisolon mit keiner Inflammation verbunden. Nur bei 6 Patienten zeigte die FNB eine zelluläre Transplantatreaktion von Grad I und mehr.

4.3.3 Guter - schlechter klinischer Befund

In der nächsten Tabelle wird die FNB-Bewertung und ihre Einteilung von Grad 0 - III der restlichen 296 Aspiarte mit dem klinischen Zustand zum Zeitpunkt der Aspiration verglichen. Die genaue Beschreibung der Vergleichskriterien ist unter Punkt 3.3.5 aufgeführt. (Tab. 26)

Betrachtet man zunächst die senkrechten Spalten, die den verschiedenen Abstoßungsgraden entsprechen, so erkennt man, daß von insgesamt 97 FNB mit keiner zellulären Inflammation (AR 0) in 78 Fällen diese FNB auch in einen Zeitraum guter Klinik fallen. Nur 19 Aspiarte wurden entnommen, als die Transplantatfunktion unbefriedigend war. Auch Aspiarte, die eine AR Grad 0 - I oder I zeigen, korrelieren zum überwiegenden Teil der Fälle mit guter Symptomatik von Niere und Patient. Eine zelluläre Inflammation von Grad I - II und höher hingegen geht meistens mit einer schlechten Charakteristik einher. So treffen von 27 Aspiraten mit AR I - II nur 9 mit gutem Zustand des Patienten zur gleichen Zeit und 18 mit einer behandlungsbedürftigen Situation zusammen. Ähnlich ist die Korrelation von Inflammation und Klinik bei zellulären Inflammationen der Stärke II bis III. (Tab. 26)

Die waagrechten Spalten sagen folgendes aus: In die Rubrik guter Klinik fallen insgesamt 179 FNB. Der deutlich überwiegende Teil dieser FNB zeigt AR 0 (n=78). Zusätzlich fällt ein beträchtlicher Teil dieser korrelierenden Aspiarte in die Abstoßungsgrade 0 - I und I. Nur relativ wenige FNB, die in einem Zeitraum unauffälligen Befundes entnommen wurden, haben eine höhere Inflammation als Grad I. Mit behandlungsbedürftiger Symptomatik stehen 117 Aspiarte in zeitlichem Zusammenhang. Von diesen 117 FNB zeigen nur 19 keine Inflammation und 14 Grad 0 - I. Der überwiegende Teil der FNB bei schlechtem Befinden wegen einer akuten Abstoßungsreaktion zeigt entsprechend eine Inflammation von Grad I, I - II oder II. Nur in wenigen Fällen finden wir eine massive Abstoßung von Grad II - III oder III. (Tab. 26)

AR	0	0-I	I	I-II	II	II-III	III	Summe
gute Klinik (n)	78	33	34	9	18	4	3	179
schlechte Klinik (n)	19	14	24	18	30	7	5	117
Summe (n)	97	47	58	27	48	11	8	296

Tabelle 26: Vergleich zellulärer Inflammation in FNB mit guter und schlechter Klinik

Die gleichen Ergebnisse sind in den folgenden beiden Abbildungen in Prozenten ausgedrückt. Die senkrechten Spalten in Tabelle 27 entsprechen den verschiedenen Graden zellulärer Inflammation. Hier wird verdeutlicht, daß die FNB ohne Inflammation (AR 0) zu 81 % einer "guten Klinik" entsprechen und 19 % mit "schlechter Klinik" in Zusammenhang stehen. Auch bei AR 0 - I ist das Bild ähnlich der zuvor gezeigten Gruppe. Bei AR I entsprechen immer noch 59 % der Aspiate einem unauffälligen Befund des Patienten und 41 % einer behandlungsbedürftigen Situation. Erst ab AR I - II herrscht schlechter klinischer Verlauf deutlich vor. Bei AR I - II / II / II - III und III stammen jeweils über 60 % der FNB aus einem Zeitraum kurz vor zusätzlicher Abstoßungsbehandlung oder während noch nicht wirksamer Therapie. In jeder dieser Gruppen treffen noch über 30 % der FNB mit einer nicht behandlungsbedürftigen Situation oder bereits wirksamen Therapie zusammen. (Tab. 27)

AR	0	0 - I	I	I-II	II	II-III	III
gute Klinik in %	81	70	59	33	37	36	38
Schlechte Klinik in %	19	30	41	67	63	64	62
Summe	100	100	100	100	100	100	100

Tabelle 27: Prozentualer Vergleich von zellulärer Inflammation in FNB mit Klinik innerhalb der verschiedenen Grade von akuter Abstoßungsreaktion (senkrechte Spalten)

Die waagrechten Spalten in Tabelle 28 repräsentieren die verschiedenen klinischen Situationen zum Zeitpunkt der Aspiration.

In der Rubrik "Gute Klinik" fallen bereits 44 % aller FNB in AR 0, 18 % in AR 0 - I und noch 19 % in AR I. Somit liegen 81 % aller FNB, die bei Wohlbefinden des Patienten gemacht wurden, im Bereich AR 0 bis I. Nur 19 % der FNB, die aus einem "guten klinischen Zeitraum" stammen, zeigen dennoch eine Inflammation größer als Grad I an. In der Rubrik "Schlechte Klinik" weisen nur 16 % der FNB keine Inflammation und 12 % eine AR 0 - I auf. 72 % der FNB, die bei schlechtem klinischen Zustand des Patienten und Transplantates entnommen wurden, zeigen eine Inflammation von Grad I und mehr.

Daraus ergibt sich, daß FNB mit geringer Inflammation Grad 0 oder 0 - I zum Großteil mit einem guten klinischen Verlauf korrelieren. FNB mit einer AR I - II und mehr hingegen meistens mit einem behandlungsbedürftigen Zustand zusammenfallen. AR I stellt etwa die Übergangszone dar, in der gute und schlechte klinische Verläufe fast gleich häufig sind. (Tab. 28)

AR	0	0 - I	I	I - II	II	II-III	III	Summe
gute Klinik in %	44	18	19	5	10	2	2	100
schlechte Klinik in %	16	12	21	15	26	6	4	100

Tabelle 28: Prozentuale Verteilung der verschiedenen Grade zellulärer Inflammation der FNB innerhalb guter und schlechter Klinik (waagrechte Spalten)

Die Ergebnisse der Tabelle 26 sind in Tabelle 29 in weitere Gruppen unterteilt. Die Rubriken "gute" und "schlechte" Klinik sind jeweils in zwei Spalten, die die Asparate nach dem Zeitpunkt ihrer Entnahme näher differenzieren, aufgeteilt. Die Biopsien, die bei unauffälligem Befund des Patienten entnommen wurden, sind aufgesplittet in die Fälle, bei denen die Patienten in nächster Zeit keiner zusätzlichen Abstoßungstherapie bedurften und mindestens die nächsten 6 Tage keine hochdosierten Immunsuppressiva erhielten und solche, die eine Abstoßungstherapie erhielten, unter der sich der klinische Befund bereits gebessert hat. (Siehe auch Punkt 3.3.5)

Die Fälle "schlechter Klinik" sind unterteilt in eine Gruppe während Behandlung, unter der sich der klinische Zustand des Transplantates jedoch noch nicht besserte und eine Gruppe, die höchstens 5 Tage vor zusätzlicher Abstoßungstherapie stand. In letztere fallen auch die Aufgaben und Explantationen von Transplantaten. Die senkrechten Spalten entsprechen den verschiedenen Abstoßungsgraden. Von den 97 FNB ohne Inflammation (AR 0) bedurften bei 46 Aspiraten die Patienten in nächster Zeit keiner Abstoßungstherapie, 32 erhielten eine wirksame Behandlung, bei 9 hatte die Behandlung noch keinen Erfolg und nur 10 fallen in einen Zeitraum kurz vor Abstoßungsbehandlung. Ähnlich sind die Ergebnisse bei AR 0 - I. Bei AR I, der Übergangszone bedürfen 19 Fälle in nächster Zeit keiner Behandlung jedoch stehen 17 kurz vor Therapie. Ab AR I - II gehören nur sehr wenige FNB zu einer klinischen Situation, in der in nächster Zeit keine Abstoßungstherapie benötigt wird. Der Großteil der FNB mit AR I - II und höher liegt kurz vor Abstoßungstherapie. In etwa gleicher Anzahl sind die FNB mit AR I - II und mehr auf die Fälle während wirksamer und noch nicht wirksamer Behandlung aufgeteilt. (Tab. 29)

Die waagrechten Spalten der gleichen Tabelle 29 entsprechen der Einteilung der klinischen Symptomatik abhängig von Art und Zeitpunkt der Therapie. In der obersten Rubrik sind die Asparate aufgeführt, bei denen die jeweiligen Patienten keiner Abstoßungstherapie in nächster Zeit bedurften. Von 97 FNB haben 46 keine Inflammation, 17 Grad 0 - I und 19 Grad I. Somit haben 82 FNB in dieser Kategorie eine geringe zelluläre Reaktion von höchstens Grad I und nur 12 eine, die mehr als I beträgt. In der untersten Spalte sind die Fälle kurz vor nötiger Behandlung sowie Transplantataufgaben bzw. Explantationen aufgeführt.

Klinischer Zustand	Zeitpunkt der FNB-Gewinnung	Grad der akuten zellulären Abstoßungsreaktion							Summe
		0	0 - I	I	I - II	II	II-III	III	
"gute Klinik"	mindestens 6 Tage vor Therapie einer akuten Abstoßungsreaktion (AR)	46	17	19	6	2	2	2	94
	während bereits wirksamer Abstoßungstherapie	32	16	15	3	16	2	1	85
"schlechte Klinik"	während noch nicht wirksamer Abstoßungstherapie	9	1	7	6	10	1	0	34
	höchstens 5 Tage vor Therapie einer akuten Abstoßungsreaktion bzw. Transplantataufgabe bzw. Explantation	10	13	17	12	20	6	5	83
Summe		97	47	58	27	48	11	8	296

Tabelle 29: Vergleich der Höhe der akuten zellulären Abstoßungsreaktion in der FNB mit dem klinischen Zustand zum Zeitpunkt der FNB-Gewinnung

Von 83 Fällen dieser Rubrik zeigen 10 keine und 13 eine AR 0 - I. 60 Asparate zeigen mindestens eine Inflammation von Grad I. Die beiden mittleren Spalten führen die Asparate auf, die während Behandlung entnommen wurden. Sie nehmen eine gewisse Sonderstellung ein. Während einer Abstoßungsbehandlung werden klinischer Verlauf und Inflammation der Niere nämlich einerseits von der Abstoßungsreaktion und andererseits von der zusätzlichen Therapie stark beeinflusst. Während wirksamer Behandlung zeigt der Großteil der FNB eine niedrige Inflammation von AR 0 bis I an, doch finden wir auch eine Reihe von FNB, die trotz wirksamer Therapie noch eine beträchtliche Inflammation aufweisen. Während nicht wirksamer Therapie sind die FNB über niedrige und höhere Inflamationsgrade ziemlich gleichmäßig verteilt. (Tab. 29)

Tabelle 30 faßt die Ergebnisse innerhalb der verschiedenen Abstoßungsgruppen noch einmal in Prozentzahlen zusammen. Die senkrechten Spalten sind maßgebend für die Berechnung der Prozentzahlen. (Tab. 30)

Tabelle 31 stellt die gleichen Ergebnisse für die jeweiligen Einteilungen des klinischen Zustandes zum Zeitpunkt der Aspiration dar. In dieser Tabelle sind die waagrechten Spalten Grundlage für die Berechnung der Prozentzahlen. Noch einmal wird verdeutlicht, daß in den Fällen, die in nächster Zeit keiner Behandlung bedurften 50 % der entsprechenden Asparate keine Inflammation, 18 % Grad 0 - I und 20 % Grad I zeigen. Somit reflektieren 88 % dieser FNB nur eine geringe Inflammation von höchstens Grad I und nur 12 % eine zelluläre Reaktion höheren Grades. Diese Patienten und Nieren kommen auch ohne Behandlung gut aus. Kurz vor Behandlung (unterste Spalte) zeigen nur 12 % der FNB keine Inflammation und 16 % Grad 0 - I. Die restlichen 72 % der FNB in dieser Gruppe "schlechter Klinik" haben in Übereinstimmung damit eine akute Abstoßungsreaktion von mindestens Grad I. Die beiden mittleren Spalten zeigen, daß während wirksamer Behandlung 75 % der FNB Grad 0 bis I aufweisen. Nur 25 % gehören zu Grad I und mehr. Während nicht wirksamer Behandlung zeigen jedoch auch 26 % der FNB überhaupt keine Inflammation. Trotzdem geben diese Prozentzahlen zu erkennen, daß während nicht wirksamer Behandlung ein weitaus größerer Prozentsatz der FNB eine beträchtliche Inflammation von Grad I - II (18 %) oder II (29 %) hat als in der Gruppe wirksamer Behandlung, bei der nur 3 % Grad I - II und 19 % Grad II signalisieren. Inflammation von mehr als Grad II kommt während Behandlung in beiden Gruppen kaum vor. (Tab. 31)

Klinischer Zustand	Zeitpunkt der FNB-Gewinnung	Grad der akuten zellulären Abstoßungsreaktion						
		0	0 - I	I	I - II	II	II-III	III
"gute Klinik"	mindestens 6 Tage vor Therapie einer akuten Abstoßungsreaktion (AR)	47 %	36 %	33 %	22 %	4 %	18 %	25 %
	während bereits wirksamer Abstoßungstherapie	34 %	34 %	26 %	11 %	33 %	18 %	13 %
"schlechte Klinik"	während noch nicht wirksamer Abstoßungstherapie	9 %	2 %	12 %	22 %	21 %	9 %	0 %
	höchstens 5 Tage vor Therapie einer akuten Abstoßungsreaktion bzw. Transplantataufgabe bzw. Explantation	10 %	28 %	29 %	45 %	42 %	55 %	62 %
Summe		100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %

Tabelle 30:

Vergleich der Höhe der akuten zellulären Abstoßungsreaktion in der FNB mit dem klinischen Zustand zum Zeitpunkt der FNB-Gewinnung
- die Prozentzahlen beziehen sich auf die verschiedenen Grade von AR (senkrechte Spalten)

Klinischer Zustand	Zeitpunkt der FNB-Gewinnung	Grad der akuten zellulären Abstoßungsreaktion							Summe
		0	0 - I	I	I - II	II	II-III	III	
"gute Klinik"	mindestens 6 Tage vor Therapie einer akuten Abstoßungsreaktion (AR)	50 %	18 %	20 %	6 %	2 %	2 %	2 %	100 %
	während bereits wirksamer Abstoßungstherapie	38 %	19 %	18 %	3 %	19 %	2 %	1 %	100 %
"schlechte Klinik"	während noch nicht wirksamer Abstoßungstherapie	26 %	3 %	21 %	18 %	29 %	3 %	0 %	100 %
	höchstens 5 Tage vor Therapie einer akuten Abstoßungsreaktion bzw. Transplantataufgabe bzw. Explantation	12 %	16 %	20 %	15 %	24 %	7 %	6 %	100 %

Tabelle 31 : Vergleich der Höhe der akuten zellulären Abstoßungsreaktion in der FNB mit dem klinischen Zustand zum Zeitpunkt der FNB-Gewinnung
 - die Zahlen stellen die prozentuale Verteilung der verschiedenen Grade von AR der unterschiedlichen klinischen Situationen dar - (waagrechte Spalten)

Tabelle 32 gliedert die Fälle guter Klinik, die in nächster Zeit keiner Behandlung bedürfen, weiter auf. Die obere Spalte beinhaltet die Fälle, in denen zum Zeitpunkt der Aspiration mindestens 6 Tage seit einer vorangegangenen Therapie vergangen sind. Die untere Spalte zeigt die Fälle, bei denen die FNB höchstens 5 Tage nach einer vorangegangenen Therapie entnommen wurde. Die Tabelle läßt erkennen, daß es nur einige wenige Fälle mit Inflammation größer als I gibt, die schon lange nicht mehr behandelt wurden und auch in nächster Zeit keiner Behandlung mehr bedürfen. Einige Fälle mit AR Grad I - II und mehr, die in nächster Zeit jedoch keiner Behandlung mehr bedürfen, sind aus einem Zeitraum kurz nach vorangegangener Behandlung. (Tab. 32)

Tabelle 33 unterteilt die Fälle schlechter Klinik weiter. Die beiden oberen Spalten zeigen die Aspirationen, die höchstens 5 Tage vor zusätzlicher Abstoßungstherapie durchgeführt wurden. Diese Fälle sind gesplittet in solche, die mehr als 5 Tage zuvor keine und solche die innerhalb der letzten 5 Tage bereits gegen eine Abstoßungsreaktion eine hochdosierte Behandlung erhalten haben.

In den beiden unteren Spalten sind die unbeherrschbaren Situationen dargestellt. Bei ihnen wurden die Transplantate wegen Abstoßungsreaktionen aufgegeben oder sogar bereits explantiert. Sofort wird deutlich, daß Transplantataufgaben oder Explantationen immer von hohen Inflammationen begleitet sind. Zu klären bleiben die wenigen Fälle mit geringer Inflammation von 0 oder 0 - I, die lange zuvor nicht behandelt wurden und zum Zeitpunkt der Aspiration kurz vor einer klinisch notwendigen Abstoßungstherapie standen.

Zeitpunkt der FNB - Gewinnung	Grad der akuten zellulären Abstoßungsreaktion					
	0	0 - I	I	I - II	II	II-III III
mindestens 6 Tage nach und mindestens 6 Tage vor einer weiteren AR-Therapie	30	13	11	1	2	1 0
höchstens 5 Tage nach und mindestens 6 Tage vor einer weiteren AR-Therapie	16	4	8	5	0	1 2

Tabelle 32: Grad der akuten zellulären Abstoßungsreaktion von Aspiraten, die bei gutem, nicht behandlungsbedürftigem klinischen Zustand gewonnen wurden.

Zeitpunkt der FNB - Gewinnung	Grad der akuten zellulären Abstoßungsreaktion						
	0	0 - I	I	I - II	II	II-III	III
höchstens 5 Tage nach und höchstens 5 Tage vor einer weiteren AR-Therapie	1	3	1	3	1	1	0
mindestens 6 Tage nach und höchstens 5 Tage vor einer weiteren AR-Therapie	9	10	15	9	17	4	1
Transplantataufgabe	0	0	1	0	2	1	2
Explantation	0	0	0	0	0	0	2

Tabelle 33: Grad der akuten zellulären Abstoßungsreaktion von Aspiraten, die bei schlechtem klinischen Zustand gewonnen wurden.

4.4. Coulter-Counter-Messung der FNB

4.4.1 Einteilung der Ergebnisse der Coulter-Counter-Berechnungen nach Corrected Increment in AR 0 / I / II

Bei insgesamt 91 FNB und zugehörigem p.B. wurden die Messungen mit Hilfe des Coulter Counters durchgeführt. 62 dieser so bestimmten Werte erfüllen die unter Pkt. 3.4.3 angeführten Bedingungen für eine repräsentative gute Messung.

Da zunächst keinerlei Anhalt über mögliche Ergebnisse besteht, wird für eine erste Auswertung die Einteilung unserer FNB-Bewertung nach zytologischen Gesichtspunkten mit Berechnung des Corrected Increments als Grundlage genommen. Von den 62 in die Auswertung eingehenden Aspiraten, sind 45 nach zytologischen Kriterien - d. h. mindestens 10 NGZ pro 100 Leukozyten - bewertbar. Mit diesen 45 FNB erfolgt die erste Auswertung. Die Einteilung nach AR 0, I und II entspricht dem Grad, der sich durch das Corrected Increment ergibt.

In Tabelle 34 sind die Leukozytenzahlen pro 1 Million Erythrozyten, errechnet mit Hilfe der Coulter Counter-Messungen, gemäß Punkt 3.4.4, eingetragen. Die Ringe stellen die Werte für das p.B. und die Kreuze für die dazugehörige FNB dar. Die Höhe der jeweiligen Verbindungslinie entspricht der Anzahl von Leukozyten, die wirklich aus der Niere stammt. Man erkennt zunächst bei AR 0, daß fast alle der betroffenen Asparate eine gewisse Anreicherung von Leukozyten in der FNB besitzen. Nur einige Fälle dieser sicher bewertbaren FNB mit mehr als 10 NGZ pro 100 Leukozyten weisen fast keine Inflammation im Transplantat auf.

Betrachtet man den Unterschied bezüglich der Leukozyten von FNB und p.B. bei AR I ergibt sich in etwa ein gleiches Bild wie bei AR 0. Dies wird auch im errechneten Mittelwert ($\bar{m}$) der Leukozyten pro 1 Million Erythrozyten widergespiegelt. Bildet man aus den jeweiligen Mittelwerten von FNB und p.B. den Quotienten erhält man einen Faktor, der die Anreicherung von Leukozyten im Aspirat ausdrückt (siehe Punkt 3.4.4). Diese Faktoren betragen bei AR0 wie auch bei AR I etwa 1.7.

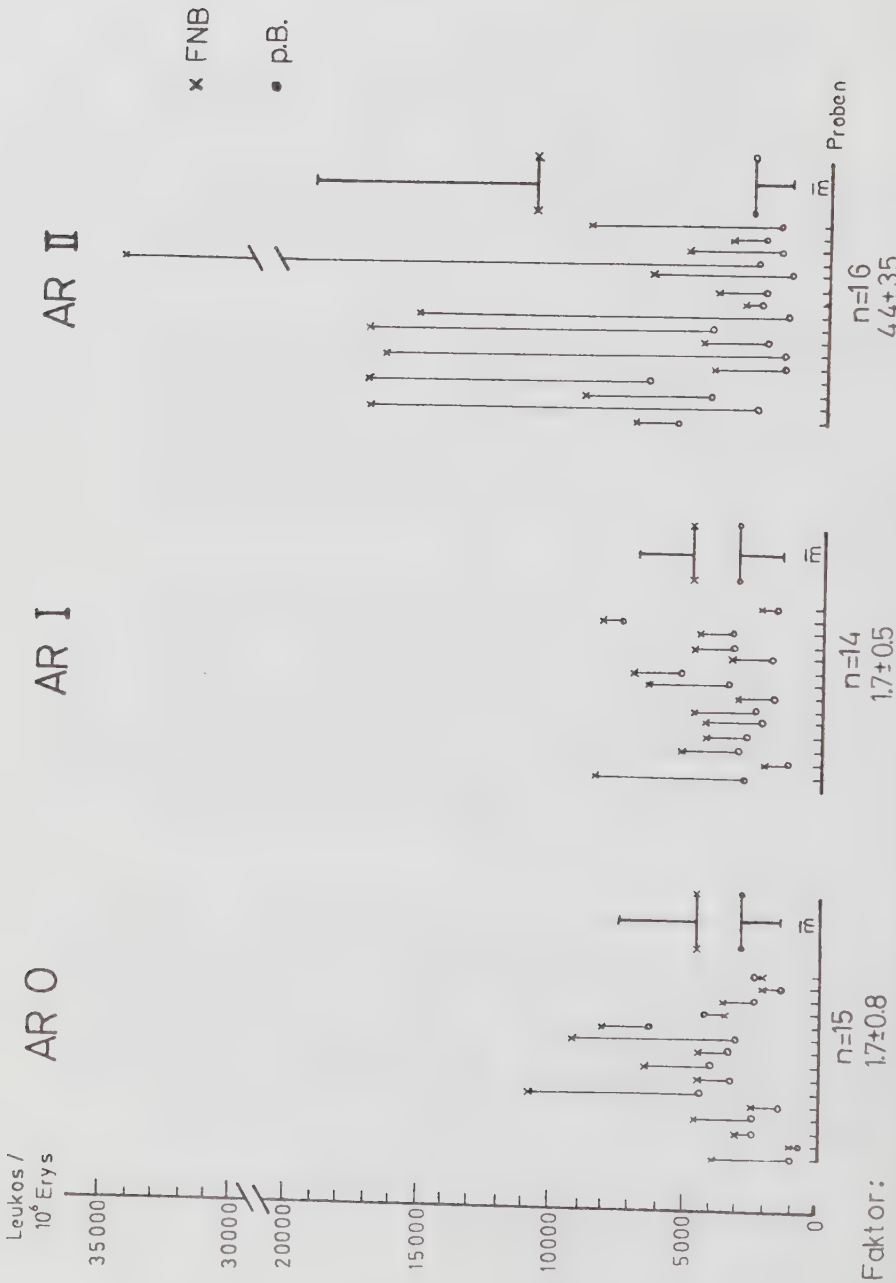


Tabelle 34: Leukozytenzahlen pro 1 Million Erythrozyten der jeweiligen Paare von p.B. (o) und FNB (x) und die dazu gehörigen Mittelwerte ($\bar{m}$) mit Standardabweichung

Faktor:

Bei AR II wird der Anstieg der wirklich inflammatorischen Zellen in der FNB deutlich. Es resultiert ein durchschnittlicher Faktor von 4.4. In dieser Gruppe (AR II) sind die FNB, die laut C.I. alle gleich bewertet wurden, von stark unterschiedlicher Zusammensetzung. In diese Gruppe fallen Biopsien mit Faktoren von 1,2 bis 12,4, eine Heterogenität, die bisher nicht erkannt werden konnte. Diese Tatsache drückt auch die riesige Standardabweichung der jeweiligen Faktoren von Leukozyten zu Erythrozyten in der FNB zum p. B. aus (Tab. 34)

In Tabelle 35 sind die gleichen Berechnungen für die einzelnen Zellsorten wie Lymphozyten, Granulozyten und Monozyten dargestellt. Die einzelnen Zellpopulationen werden nach prozentualer Bestimmung in den gefärbten Präparaten auf die mit dem Coulter Counter bestimmten Leukozytenzahlen pro 1 Mill. Erythrozyten umgerechnet. Der übersichtlichen Darstellung halber sind diese Ergebnisse ausschließlich als Mittelwert mit Standardabweichung abgebildet. Die gepunkteten Säulen stellen das p.B. dar, die gesamten Säulen die FNB. Die leeren Bereiche der Säulen entsprechen den Zellen, die tatsächlich aus der Niere stammen.

Bei AR 0 besteht der überwiegende Teil der inflammatorischen Zellen aus Granulozyten. Bei AR I übernehmen hingegen die Lymphozyten und Monozyten zum Großteil den Anteil der Zellen im Aspirat, der aus dem Interstitium des Transplantates gewonnen wurde. Die Granulozyten sind nur noch in geringerem Maße beteiligt. In Tabelle 34 wurde gezeigt, daß in der Anzahl der inflammatorischen Zellen zwischen AR 0 und I praktisch kein Unterschied besteht. Aus dieser Tabelle wird deutlich, daß die Zusammensetzung dieser Zellen bei AR 0 und I jedoch unterschiedlich ist. Dies erklärt die differierende Höhe des C. I., nach dem diese Einteilung erfolgte. In AR II besteht ein enormer Teil der ins Nierenparenchym infiltrierenden Zellen aus mononukleären Zellen wie Lymphozyten und Monozyten. Granulozyten sind ebenfalls deutlich an der Inflammation beteiligt (Tab. 35).

Faßt man die rein inflammatorischen Zellen, d.h. die leeren Bereiche der einzelnen Säulen in der Tabelle zusammen, kann die prozentuale Verteilung der Zellen, die aus dem Nierenparenchym stammen, alleine berechnet werden (Tab. 36). Bei AR 0 wird die geringere Zahl von inflammatorischen Zellen von Granulozyten beherrscht, einer Zellsorte, die beim C. I. nicht zählt. Bei AR I bestimmen die mononukleären Zellen die zelluläre Transplantatreaktion, jedoch sind auch erhebliche Zahlen von Granulozyten beteiligt.

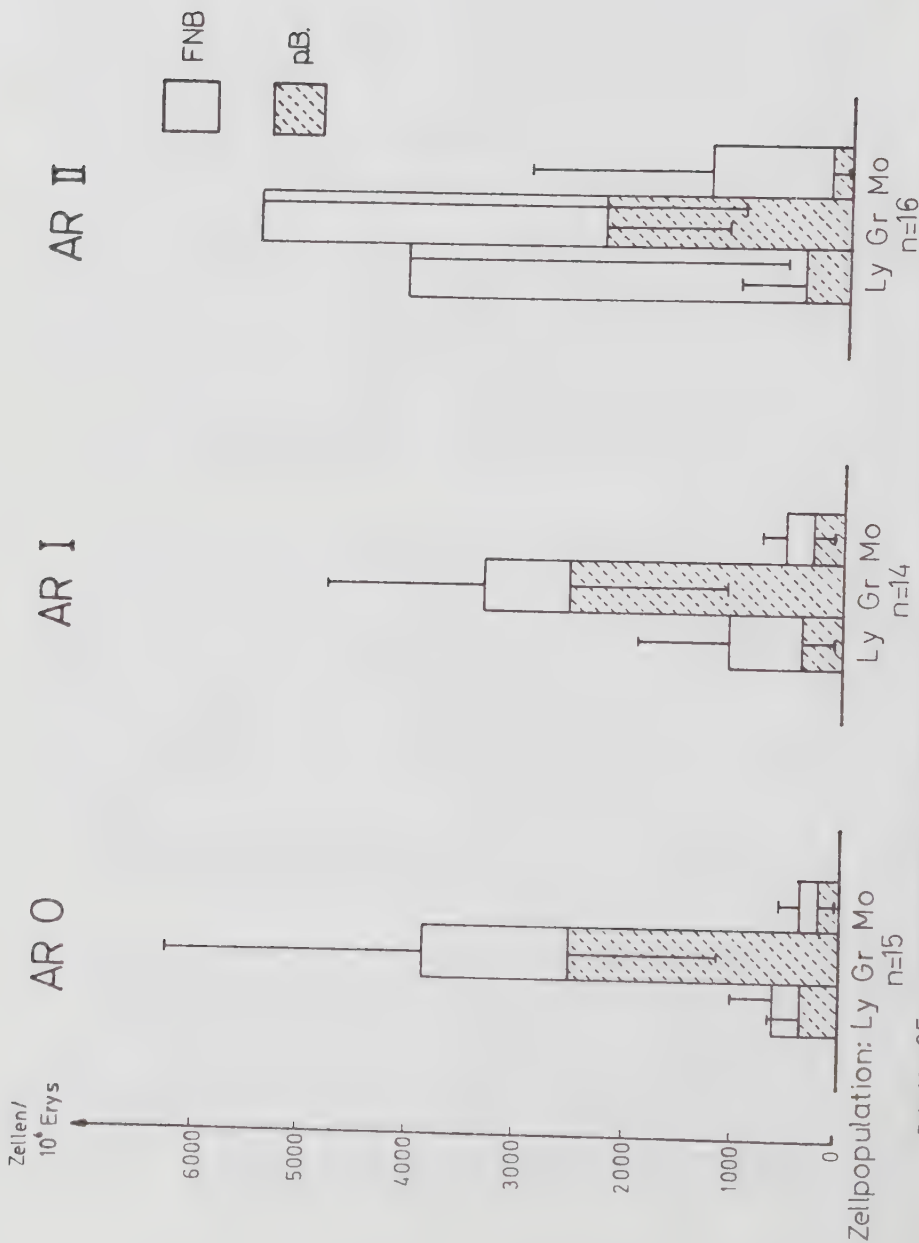


Tabelle 35: Lymphozyten (Ly), Granulozyten (Gr), Monozyten (Mo) pro 1 Million Erythrozyten im p.B. und in der FNB

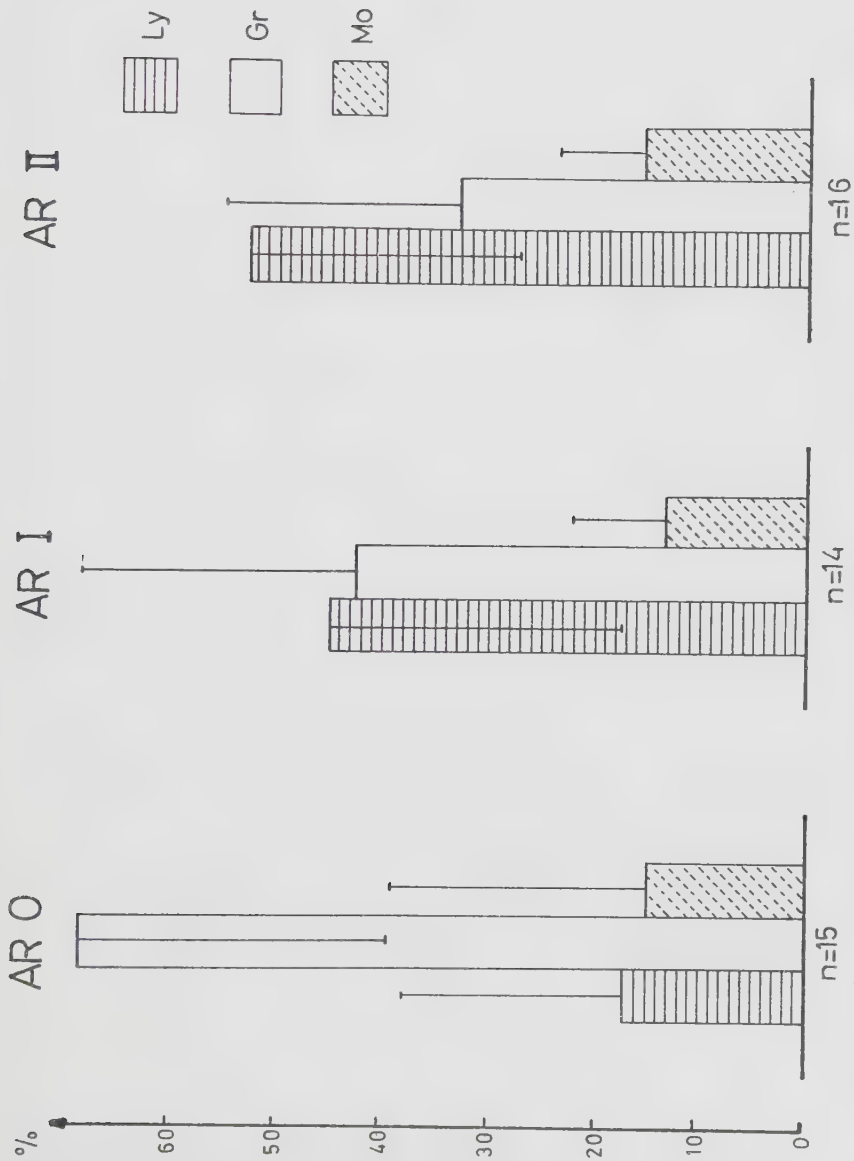


Tabelle 36: Tatsächliche prozentuale Verteilung der rein inflammatorischen Zellen

In Tabelle 34 wurde gezeigt, daß die absolute Zahl der inflammatorischen Zellen in Aspiraten mit AR Grad II beträchtlich höher liegt. Die Zusammensetzung der Entzündungszellen aus der Niere unterscheidet sich jedoch nur wenig von derjenigen bei AR I.

4.4.2 Beurteilung der Bewertbarkeit von FNB mit Hilfe des Coulter-Counters

Die in Punkt 4.4.1 gezeigten Ergebnisse werden benützt, um die Frage der Bewertbarkeit von FNB sicherer beantworten zu können. Dieses Problem besteht vor allem bei Aspiraten mit wenig NGZ - ca 5 pro 100 Leukozyten - und einem niedrigen C.I., so daß daraus nicht sicher hervorgeht, ob die betreffende FNB einer AR 0 entspricht, oder nur zu stark mit peripherem Blut kontaminiert ist.

Als Kontrolle dienen die 15 zytologisch sicher bewertbaren FNB mit Grad AR 0 mit mehr als 10 NGZ pro 100 Leukozyten, dargestellt in Tabelle 37 auf der linken Seite. Der mit Hilfe des Coulter Counters gefundene durchschnittliche Faktor (siehe Punkt 3.4.4) dieser Fälle beträgt 1,7. Von den 17 zytologisch nicht sicher bewertbaren FNB weisen 5 Asparate einen durchschnittlichen Faktor von 1,6 auf. Dieser zeigt, daß diese Asparate sicher gut gelungen sind - Mittlere Werte der Tabelle - . Die restlichen 12 fraglich bewertbaren FNB haben einen geringen Faktor kleiner als 1,3 und bleiben so auch mit Hilfe des Coulter Counters fraglich bewertbar - rechte Werte der Tabelle. In den meisten dieser 12 fraglich bewertbaren FNB konnten jedoch einige sichere NGZ aufgefunden werden. Diese Tatsache zeigt, daß diese FNB zwar aus der Niere stammen, jedoch der überwiegende Teil des Aspirates sich aus kontaminierendem Blut aus der Niere zusammensetzt. Die Faktoren liegen hier bei ca 1,0 - ein Hinweis, daß das Blut, welches die Niere durchfließt, in der Zusammensetzung peripherem Blut entspricht. Dieses Ergebnis dient als Grundlage für die Coulter Counter-Berechnungen, die unter Punkt 3.4.4 beschrieben wurden.

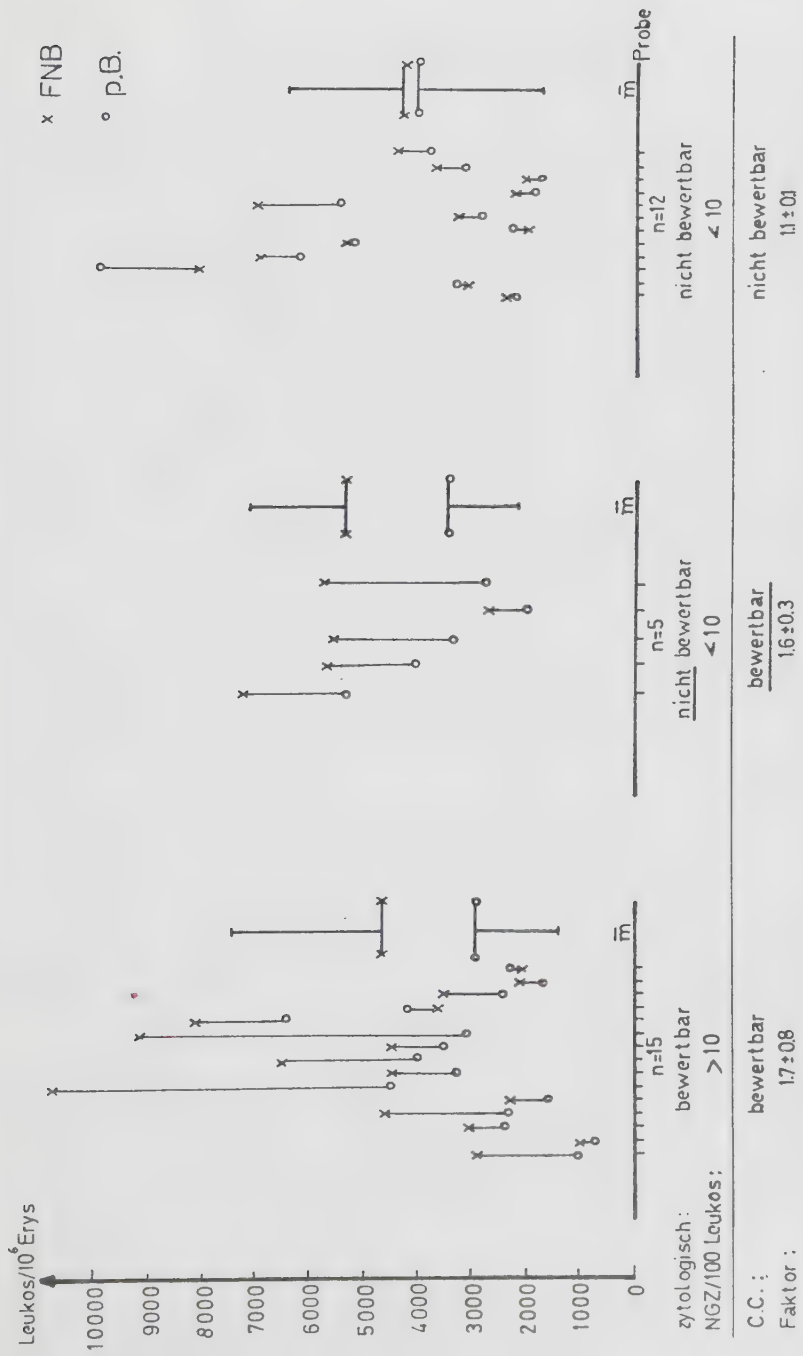


Tabelle 37 : Unterscheidung bewertbarer und nicht bewertbarer FNB mit Hilfe der Coulter Counter Berechnungen

4.4.3 Vergleich der rein inflammatorischen Zellen mit Klinik und Corrected Increment

Bisher wurden die Ergebnisse des Coulter Counters mit denen der FNB, dem Corrected Increment entsprechend, verglichen. Die Coulter Counter Bestimmungen haben das konkrete Ziel die Aussage des Corrected Increments zu überprüfen. In der Einleitung wurden die Probleme aufgezeigt, die bei der Berechnung des Corrected Increments bestehen. Im folgenden wird deshalb klinischer Zustand zum Zeitpunkt der Aspiration mit den Ergebnissen des Coulter Counters verglichen. Die Vergleichskriterien entsprechen denen in Punkt 3.3.5 aufgeführten. Gemäß diesen Kriterien werden alle FNB, die in die Coulter Counter Auswertungen eingehen, in die jeweilige Gruppe guter und schlechter Klinik zum Zeitpunkt der FNB-Gewinnung eingeteilt. Außerdem werden wiederum andere klinische Probleme wie Virusinfekte von vorneherein aus diesem Vergleich ausgegliedert. Die klinischen Ergebnisse werden dann mit denen des Coulter Counters korreliert. Berücksichtigt werden dabei Faktoren und Zusammensetzung der rein inflammatorischen Zellen.

Von den 62 verwertbaren Messungen blieben 12 FNB auch mit Hilfe des Coulter Counters nicht sicher zu bewerten (siehe Punkt 4.4.2). In 9 Fällen bestand zum Zeitpunkt der FNB ein anderes klinisches Problem, wie 8-mal Virusinfekte bzw. einmal eine Pyelonephritis. Die Ergebnisse dieser Fälle sind in Tabelle 38 dargestellt. Die Inflammation wird von mononukleären Zellen beherrscht (Tab. 38)

In den restlichen 41 Fällen zeigte die Klinik 30 mal einen guten Verlauf und 11 mal einen schlechten. Betrachtet man zunächst die Faktoren, die die Anreicherung von inflammatorischen Zellen im Aspirat ausdrücken (siehe Punkt 3.4.4), finden sich 4 Fälle, die zytologisch sicher bewertbar sind, d.h. mehr als 10 NGZ pro 100 Leukozyten aufweisen, deren Faktoren jedoch kleiner als 1,3 sind. Die einzelnen Proben sind in Tabelle 39 dargestellt. Diese 4 Aspirationen stammen aus Nieren, in die praktisch keine Zellen infiltriert sind. Dieser Schluß folgt daher, daß die FNB auf Grund der hohen Zahl von durchschnittlich 90 NGZ pro 100 Leukozyten relativ "trocken" sein muß. Der geringe Faktor jedoch zeigt, daß dennoch nahezu keine inflammatorischen Zellen im Transplantat vorhanden sind. Vergleicht man diese Fälle mit dem klinischen Zustand, weisen sie alle zu diesem Zeitpunkt einen guten Verlauf auf. (Tab. 39)

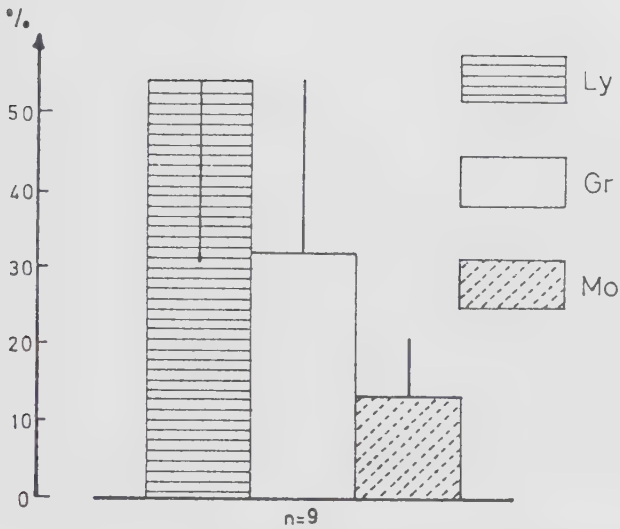
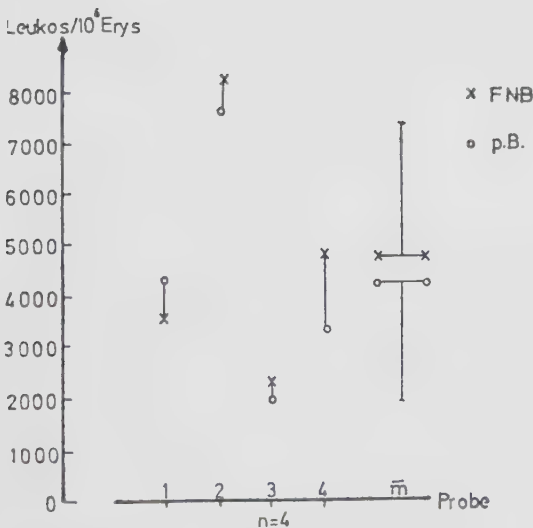


Tabelle 38: Tatsächliche prozentuale Verteilung der rein inflammatorischen Zellen bei anderen klinischen Problemen, wie Virusinfektionen und Pyelonephritis



zytologisch: bewertbar
 NGZ/100 Leukos: $\bar{m} = 90$
 Faktor: 11 ± 02

Tabelle 39: Fälle guter Klinik mit kaum einer Inflammation in der Niere

Die restlichen 37 Aspirate mit beträchtlichen Faktoren stammen folglich alle aus Transplantaten mit erheblicher Inflammation. Die Höhe des Faktors kann nicht direkt mit der Stärke der Inflammation korreliert werden, da er einerseits von der Höhe der Inflammation andererseits stark von der Güte der Biopsie abhängt. Mit Hilfe dieses Faktors kann erstmalig die Zusammensetzung der rein inflammatorischen Zellen alleine berechnet werden. Die durchschnittliche prozentuale Zusammensetzung der rein inflammatorischen Zellen, wie Lymphozyten, Granulozyten und Monozyten ist in Tabelle 40 dargestellt. Die 26 Fälle mit guter Klinik sind links und das entsprechende Ergebnis für die 11 Fälle mit schlechter Klinik zum Zeitpunkt der Aspiration ist rechts aufgeführt. Der klinische Zustand wird gut durch die prozentuale Zusammensetzung der inflammatorischen Zellen wiedergespiegelt. In gut arbeitenden Nieren ist meistens eine beträchtliche Zellinvasion zu sehen, die jedoch von Granulozyten dominiert wird. In Nieren mit schlechtem Zustand setzt sich die Inflammation vor allem aus mononukleären Zellen zusammen.

Vergleicht man die Ergebnisse des Coulter Counters nun mit denjenigen des C.I., so wird deutlich, daß dieses den klinischen Verlauf in gleicher Weise wiedergibt. Bei unauffälliger Symptomatik bei Biopsieentnahme zeigt das C.I. einen niedrigen Wert von durchschnittlich 1,1, bei klinisch schlechtem Zustand dagegen 3,8. Bei repräsentativen Aspiraten mittlerer Trockenheit stellt das C.I. somit sicherlich eine zuverlässige Größe dar, die sowohl Heftigkeit der Inflammation, wie auch ihre Zusammensetzung bei der Auswertung integriert. (Tab. 40)

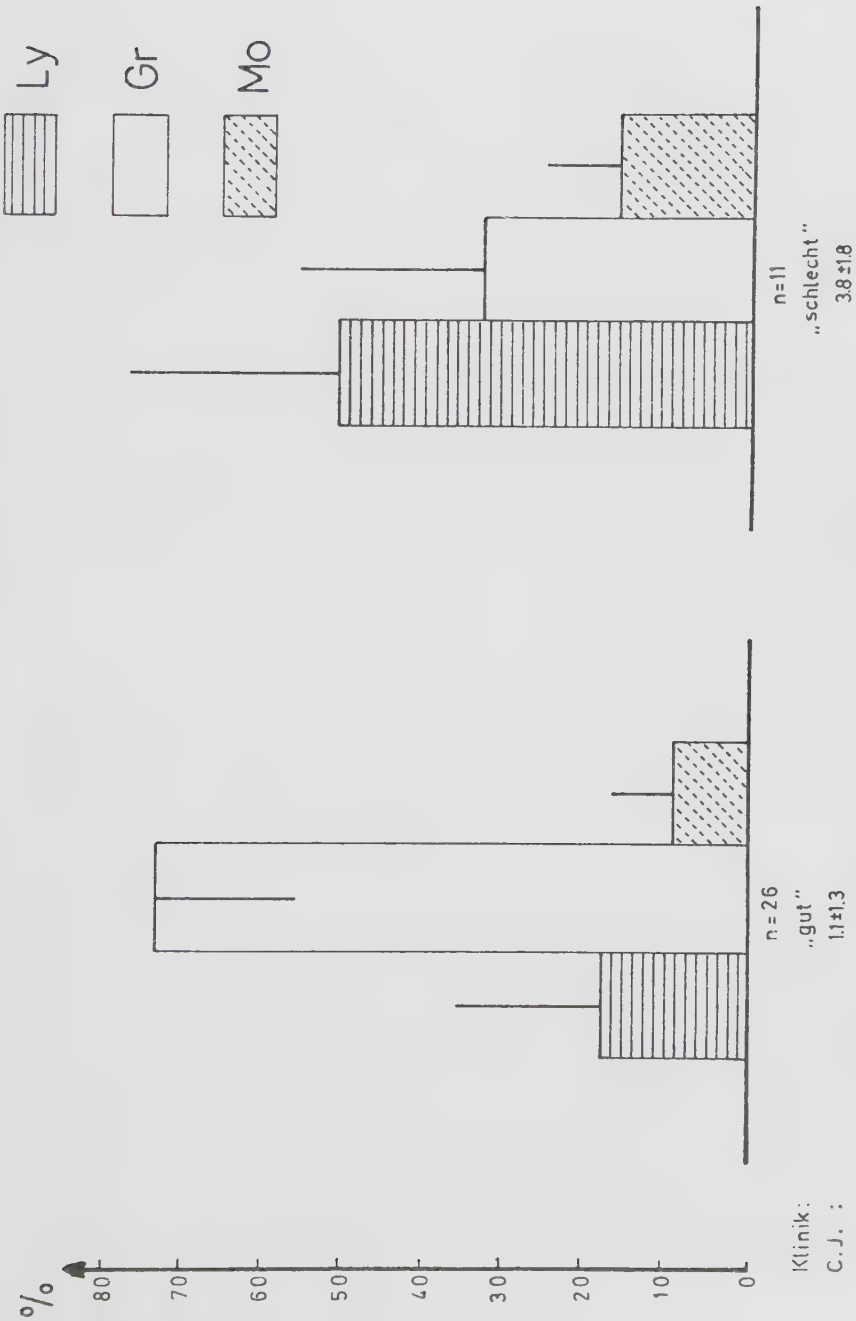


Tabelle 40: Tatsächliche prozentuale Verteilung der rein inflammatorischen Zellen verglichen mit dem klinischen Zustand und der Höhe des korrigierten Inkrements (C.I.)

5. DISKUSSION

5.1 Patienten und Datengut

5.1.1 Alter der Patienten

Das Durchschnittsalter der Patienten mit allogener Nierentransplantation im Zeitraum Juli 1981 bis Oktober 1982 lag bei 36,6 Jahren. Derzeit haben über 70 % der Patienten bei Transplantation ein Alter zwischen 20 und 49 Jahren. Mit zunehmender Verbesserung von Operationstechnik, postoperativer Überwachung und immunsuppressiver Behandlung werden Nierentransplantationen auch bei Patienten über 50 Jahren, einer Gruppe, die bisher als Risikogruppe wegen kardialer und pulmonaler Vorerkrankungen angesehen wurde, mehr und mehr durchgeführt. (85, 104) Ebenfalls wird in letzter Zeit immer häufiger versucht, Patienten im Kindesalter eine fremde Niere zu implantieren, um so die Entwicklung dieser Kinder besser zu fördern als es mit der Hämodialyse möglich ist. (84) Der jüngste Patient war zum Zeitpunkt der Operation in der eigenen Studie 11 Jahre alt.

5.1.2 Cyclosporin-A

Cy-A ist ein zyklisches Polypeptid bestehend aus 11 Aminosäuren, dessen immunsuppressive Wirkung von Borel et.al. beschrieben wurde. (16, 17, 130) Seit Einführung des neuen Immunsuppressivums konnte die 1-Jahres Überlebensrate der transplantierten Nieren drastisch verbessert werden. Lag diese unter der herkömmlichen Therapie mit Azathioprin und Methylprednisolon bei ca 50 - 60 %, konnte sie mit Hilfe von Cy-A sprunghaft auf über 80 % angehoben werden. (84) Calne et. al. begannen als erste umfangreiche klinische Studien mit Cy-A-Behandlung nach Organtransplantation. (29, 31) Er berichtet über ausgezeichnete Transplantat-Überlebensraten, aber auch über eine Reihe von Nebenwirkungen, die er dem neuen Medikament zuschrieb. (27, 28) Die auffälligste Komplikation bei allogener Nierentransplantation mit Cy-A-Therapie waren primäre und sekundäre Anurien ohne histologische Korrelate einer akuten zellulären Abstoßungsreaktion. Diese Befunde bei einer Vielzahl von Patienten schrieb er einer Nephrotoxizität von Cy-A zu. Die nephrotoxischen Veränderungen sind meist mit hohem Serumspiegel von Cy-A verbunden und bei Reduktion der Dosis rückläufig. (79) Diese Reduktion resultiert jedoch häufig in einer ungenügenden Immunsuppression, und massive Abstoßungsreaktionen können Folge dessen sein.

Basierend auf anderen klinischen Untersuchungen wird deshalb gefordert, die Standarddosis auch in einem anurischen Intervall, das einer Nephrotoxizität von Cy-A zugeschrieben wird, beizubehalten. Die oft verlängerte Anurie ist fast immer reversibel und die Nierenfunktion stabilisiert sich meistens. Bei Cy-A-Patienten sind jedoch leicht erhöhte Kreatinin-Spiegel von 2 - 2,5 mg/100 ml als normal anzusehen. (10, 72)

Die Bestimmung der Cy-A-Spiegel im Serum des Patienten ist ein Weg, die unterschiedliche Aufnahme und Verstoffwechselung dieses Medikamentes bei verschiedenen Patienten in den Griff zu bekommen und die Dosierung danach zu richten. (31, 81) Andere Nebenwirkungen, die von Calne et. al. bei einer Reihe von Patienten erstmals beschrieben wurden, sind leichte Hepatotoxizität mit Anstieg der Transaminasen und des Serum-Bilirubins, vermehrter Haarwuchs, Zahnfleischhypertrophie und leichter Tremor. Weitere schwerwiegende Komplikationen wie Virusinfektionen, Sepsis und Lymphome schrieb er vor allem der Kombination von Cy-A mit weiteren Immunsuppressiva, wie Steroiden zu, was jedoch in späteren Studien nicht in gleicher Weise bestätigt werden konnte. Maligne Tumore haben sowohl bei alleiniger Cy-A-Therapie als auch bei Kombination mit Steroiden keine Häufung gezeigt. Lymphome treten nicht häufiger als bei jeglicher anderer immunsuppressiver Therapie auf. (10) Neben der überragenden immunsuppressiven Wirkung sind weitere Vorzüge im Vergleich zur konventionellen Therapie:

Vermeidung von Cushing-Symptomatik,
weitaus geringere Suppression des Knochenmarks durch eine selektive Unterdrückung proliferierender T-Zellen,
geringeres Vorkommen von Virusinfektionen und
bessere Wundheilung. (128, 129)

Basierend auf den Ergebnissen von Calne et. al. wurde auch in München im Rahmen einer Multicenter Cy-A-Studie eine gewisse Anzahl von Patienten mit Cy-A als alleiniger Basistherapie und hochdosiertem Methylprednisolon bei akuter zellulärer Abstoßungsreaktion behandelt. (Siehe Punkt 3.3.2) (27, 28, 29, 31, 42, 78, 124) Bald wurde jedoch in weiteren klinischen Untersuchungen gefunden, daß eine Kombination von Cy-A mit einer "low dose" Methylprednisolon, die unter der Cushing-Schwelle liegt, eine noch bessere Immunsuppression und eine Herabsetzung der nephrotoxischen Probleme bringt. (62, 117, 120) Auch im Transplantationszentrum in Großhadern/München werden seit einigen Jahren die besten Erfolge mit solch einer Kombination erzielt. (84)

Der Wirkungsmechanismus von Cy-A ist im Detail noch nicht geklärt. Dem neuen Immunsuppressivum werden Effekte auf die T-Zellproliferation zugeschrieben. Höchstwahrscheinlich werden die T-Helfer und die zytotoxischen Zellen über Hemmung von Interleukin I und II beeinflusst. Außerdem besteht die Annahme, daß Suppressorzellen stimuliert bzw. geschont werden und so das Gleichgewicht von zytotoxischen und Suppressor-Zellen zugunsten der Suppressorzellen verschoben wird. (23, 87, 95, 106, 128)

5.1.3 Grunderkrankungen

Hinsichtlich der Grunderkrankungen ist die chronische Glomerulonephritis, gefolgt von der bakteriellen Pyelonephritis die häufigste Ursache der zur Transplantation führenden terminalen Niereninsuffizienz. Eigene Ergebnisse entsprechen darin im wesentlichen den bis 1977 in den Weltreports der Human Renal Transplant Registry veröffentlichten Schwerpunktsverteilungen. (104)

5.1.4 Empfänger - Spenderauswahl

Die Ergebnisse der klinischen Nierentransplantation sind hauptsächlich von immunologischen Faktoren abhängig, die noch unbekannt oder in ihrer Wertigkeit ungeklärt sind. Bluttransfusionen haben einen günstigen Effekt auf die Transplantatprognose, (6, 24, 99) obwohl über ein optimales Transfusionschema und die dadurch induzierten Mechanismen noch große Unklarheiten bestehen. (53, 88) Vor allem nach Einführung des hervorragend immunsuppressiven Medikamentes Cy-A in die Transplantations-Chirurgie ist die Wertigkeit des HLA Systems umstritten geworden. Während Kompatibilität der klassischen HLA-ABC Antigene die Transplantatfunktionsraten nur mäßig verbessert, könnte die erst seit einigen Jahren routinemäßig durchführbare HLA-DR Typisierung von größerer Bedeutung sein. (88) Auch non- HLA-Systeme oder Lewis Blutgruppensysteme dürften eine Rolle bei der Transplantatabstoßung spielen. Die individuelle Immunreaktivität eines Empfängers entscheidet zusätzlich in hohem Maß über das Schicksal eines Transplantates.

5.2 Material und Methoden

5.2.1 Feinnadelbiopsie

Die Feinnadelbiopsie war in den bisher ca 1 000 durchgeführten Fällen am Klinikum Großhadern nur einmal mit einer fraglichen Komplikation verbunden. So kam es im Anschluß an eine Aspiration zu einer ernst verlaufenden Sepsis, die jedoch nicht mit Sicherheit auf die FNB zurückgeführt werden konnte. P. Häyry induzierte einmalig bei 1 300 FNB eine über mehrere Tage andauernde Makrohämaturie mit Blasentamponade. In diesem Falle war eine atypische Transplantatanastomose durchgeführt worden. (71) Das Auftreten bzw. eine Verstärkung einer geringfügigen Mikrohämaturie ist nicht eindeutig von der in der Mehrzahl der Fälle vorbestehenden Mikrohämaturie abzugrenzen.

Der große Vorteil dieser äußerst komplikationsarmen Methode besteht darin, daß ohne Bedenken bei Bedarf sogar mehrmals täglich Asperate am gleichen Patienten durchgeführt werden können, und somit eine kontinuierliche Überwachung der Ereignisse im Transplantat möglich ist. Hinzu kommt, daß die Bearbeitung und Beurteilung nur ca 1 - 2 Stunden erfordern und so die Befunde bei Bedarf in kürzester Zeit dem Arzt in der Klinik zur Verfügung stehen.

FNB und Transplantataspirationszytologie sind semiquantitative Methoden. Die Asperate haben den Nachteil, daß periphere Blutleukozyten mit inflammatorischen Leukozyten aus dem Transplantat in variablem Ausmaß gemischt vorliegen. Da die Niere stark durchblutet ist, ist es unvermeidbar, bei der Biopsie neben wirklich inflammatorischen Zellen und Nierengewebszellen auch peripheres Blut zu aspirieren. (82) Diese Fehlerquelle wird dadurch auszuschalten versucht, daß von FNB und p.B. die Differenz gebildet wird und mit Hilfe des "Corrected Increments" der Wert der vorwiegend inflammationsspezifischen Zellen berechnet wird. Die prozentuale Verteilung der peripheren Leukozyten ist bei einem Patienten zum Zeitpunkt der FNB eine feste Größe. Die exakte Verteilung der Leukozyten in der FNB hängt dagegen stark von der Güte des Aspirates ab.

Dies bedeutet, daß die exakte Größe des "Corrected Increments" einerseits von der Qualität des Aspirates und andererseits von der Zusammensetzung der peripheren Blutleukozyten, die abhängig von Medikation, Abstoßung oder Infekten erheblich variieren kann, abhängig ist. Als Anhalt für die Qualität einer FNB dient die Menge von Nierengewebszellen im Aspirat. Jüngste Untersuchungen von P. Häyry et. al. zeigen, daß bei repräsentativen Aspiraten mit mehr als 7 Nierengewebszellen pro 100 Leukozyten eine hohe Korrelation zwischen mehrmals durchgeführten Aspiraten besteht. Weiter zeigt diese Studie, daß die Struktur der Inflammation in einer abstoßenden Niere homogen über verschiedene Teile der Nierenrinde verteilt ist. (73)

Als Aufbewahrungsmittel der Proben wurde früher ein Nährmedium mit Heparin zur Hemmung der Gerinnung benutzt. (111) Für die eigenen Untersuchungen wurde ein Medium bestehend aus RPMI - 1640, 1 ml Hepespuﬀer/Liter und 250 mg EDTA/Liter als Gerinnungshemmer hergestellt. Bei Verwendung von Heparin sind die Zählungen des Coulter-Counters nicht exakt. (1, 100) Als Kontrolle wurden bei über 30 Aspiraten die peripheren Blutproben in beiden Nährmedien aufbewahrt, dann bearbeitet und unter dem Mikroskop beurteilt. Die Ergebnisse stimmten exakt überein.

5.2.2 Stanzbiopsie

Von Anfang an wird die Stanzbiopsie zur histologischen Diagnostik der im Transplantat ablaufenden Veränderungen durchgeführt. Die Beurteilung eines Gewebeschnittes ist sicherlich die exakteste Methode zur Erkennung der Vorgänge im Transplantat. (96) Verschiedene Techniken der Licht-, Immunfluoreszenz und Elektronenmikroskopie lassen pathologische Veränderungen der Gefäße Glomerula, der Tubuli als auch des Interstitiums erkennen. (11, 47, 93) Die Stanzbiopsie ist jedoch mit einer höheren Komplikationsrate behaftet als die FNB. Komplikationen sind intra- und perirenale Hämatome sowie Nierenbeckenblutungen mit Gefährdung sowohl des Transplantates als auch des Patienten. Die Komplikationsrate der orthotop gelegenen Niere liegt zwischen 4 und 8 % bzw. reicht bis zu 15 %. (98, 136)

Aufgrund der bei Abstoßung gegebenen Transplantatschwellung sowie der Transplantatbrüchigkeit bei den mit Cy-A behandelten Patienten dürfte die Stanzbiopsie von Nierentransplantaten mit noch höheren Risiken behaftet sein. Aus diesen Gründen ist die Indikation zur Nierenbiopsie streng zu stellen. (136) Im Gegensatz zur FNB ist es daher nicht möglich mit Hilfe der Stanzbiopsie die Ereignisse im Transplantat kontinuierlich zu verfolgen. Im Regelfall wird sie in halbjährlichen Abständen durchgeführt. FNB und Stanzbiopsie sollten daher als sich ergänzende Methoden angesehen werden. (Abb. 3)

5.2.3 Klinische Parameter einer akuten zellulären Abstoßungsreaktion

Die Diagnose einer Abstoßungskrise ist nur unter Berücksichtigung verschiedener Parameter möglich. (Tabelle 41). (74, 84) Klinische Symptomatik und Labordaten bilden die Grundlage der Diagnose. Akute zelluläre Abstoßungskrisen sind häufig mit Vergrößerung des Transplantates sowie Fieber verbunden. Außerdem deuten meist abnehmende Urinausscheidung sowie Anstieg des Serum-Kreatinins auf Ereignisse in der Niere hin. Die Sonographie kann vor allem bei der Diagnose von Abflußhindernissen mit Stauung durch Prozesse in der Umgebung der Niere behilflich sein, wie Lymphozelen oder Harnextra-vasaten. Der klinische Zustand des Transplantates kann außerdem durch nuklearmedizinische Untersuchungen bestimmt werden. Eine Abstoßungskrise ist mit einem verminderten Blutfluß in der Niere verbunden, welcher sich in einem Abfall von Aufnahme und Ausscheidung radioaktiver Substanzen äußert. Ähnliche Befunde zeigen sich jedoch auch bei starkem renovaskulärem Hochdruck, ischämischer Tubulusnekrose und anderen die Nierenfunktion beeinträchtigenden Veränderungen. Die Nierenbiopsie bleibt die Methode, mit deren Hilfe endgültig eine akute zelluläre Abstoßung diagnostiziert werden kann. (80, 110, 111) Wegen ihrer relativ hohen Komplikationsrate ist die Indikation jedoch streng zu stellen (siehe Punkt 5.2.2). Als Ergänzung dient hierzu seit einiger Zeit die weitaus komplikationsärmere Methode der FNB und Aspirationszytologie (siehe Punkt 5.2.1).

Bei den eigenen Auswertungen, dem Vergleich von FNB und dem klinischen Zustand zum Zeitpunkt der Aspiration, war ich auf retrospektive Beurteilung der jeweiligen Befunde angewiesen. Hierbei besteht die Gefahr, daß bei der Vielzahl der Parameter diejenigen, die zu einem FNB Ergebnis passen, eventuell überbewertet würden, wogegen andere weniger stark gewichtet würden.

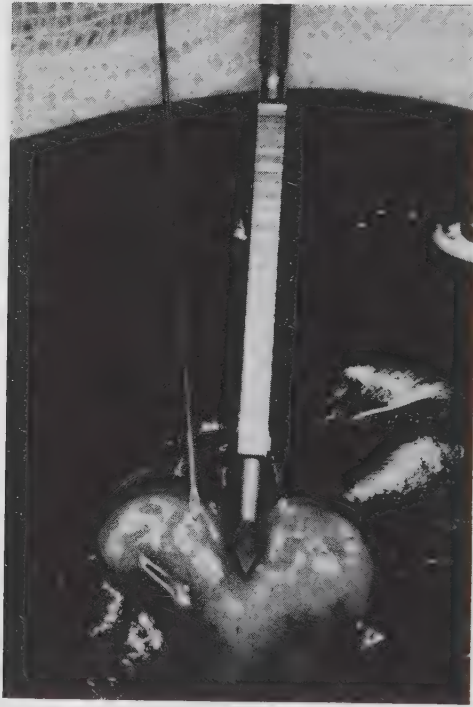


Abbildung 3 : Größenvergleich von Feinnadelbiopsie
und Stanzbiopsie

Klinik
Labor
Histologie
Sonographie
Aspirationscytologie
Nuklearmedizin



Tabelle 41 : Diagnostik nach Nierentransplantation
Versuch einer Wertigkeit unserer "Mosaiksteine"

Ausschnitt aus: Transplantationszentrum München 1976 - 1982
(Hrsg. W. Land 1982)

Als objektivster Wertmesser für die retrospektive Beurteilung von akuter Abstoßungsreaktion wurde daher in erster Linie das Ausmaß zusätzlicher Abstoßungstherapie zu diesem Vergleich herangezogen, wie es in Punkt 3.3 ausführlich beschrieben ist. Ziel meines Vergleichs von FNB und Klinik bestand darin, herauszufinden, inwieweit sich Vorhandensein und Grad akuter zellulärer Abstoßungsreaktion jeder einzelnen FNB auch im klinischen Befinden von Patient und Transplantat widerspiegelt. P. Häyry et.al. und C. Hammer et.al. haben in vielen Arbeiten bereits gezeigt, daß die FNB exakt die zellulären Ereignisse im Transplantat wiedergeben. So wurden FNB-Ergebnisse mit aus abgestoßenen Nieren gewonnenen Zelldispersaten (70) und mit Stanzbiopsien verglichen. (69, 102, 111) Art und zeitliches Auftreten der verschiedenen inflammatorischen Zellen wurden an transplantierten Rattennieren untersucht (64, 65, 133, 134) und so die verschiedenen Faktoren der jeweiligen Zellpopulationen gefunden, die als Corrected Increment in über 1 000 FNB von P. Häyry bestätigt wurden. (69, 70) In kurzen Abständen durchgeführte Aspirate sind sicher eine große Hilfe bei der Beurteilung und Überwachung von Nierenabstoßungsreaktionen, vor allem bei Problemfällen wie z. B. akuter Tubulusnekrose, in denen klinische Parameter versagen, und Einfluß immunsuppressiver Medikamente, wie ALG oder Cy-A auf die Befunde der Transplantataspirationszytologie. (56, 57, 58, 59, 111)

5.2.4 Coulter Counter Berechnungen

In Punkt 5. 2.1 wurde erläutert, daß jede FNB mit einem nicht exakt zu bestimmenden Teil peripheren Blutes kontaminiert ist und somit das Ergebnis der Auswertung und Höhe des C.I. von der Güte der Aspirate und von der Zusammensetzung der peripheren Blutleukozyten abhängig ist. Ziel der Coulter-Counter-Untersuchungen war es daher, in jedem Aspirat exakt den Anteil von kontaminierendem Blut und seinen Leukozyten im Verhältnis zu den tatsächlich inflammatorischen Zellen (IZ) zu bestimmen und dadurch die Zusammensetzung der IZ gesondert zu erhalten. (66) Die FNB stellt nämlich wie gesagt die Zusammensetzung eines Gemisches aus IZ und Blut dar.

Bei der bekannten prozentualen Auswertung der Asparate mit Hilfe des C.I. werden die Granulozyten großteils vernachlässigt. Da bei Abstoßungsreaktionen vor allem mononukleäre Zellen wie Lymphozyten und Monozyten im Transplantat überwiegen, im p.B. dagegen normalerweise die Granulozyten den Großteil der Zellen ausmachen, liegt der Prozentsatz der Granulozyten in der FNB folglich niedriger als im peripheren Blut. Sie werden demzufolge bei der Berechnung des Corrected Increments nicht als infiltrierende Zellen erkannt. (Tab. 42). Aus diesen Überlegungen heraus ergab sich als weiteres Ziel, mit Hilfe des Coulter Counters die Beteiligung der Granulozyten an den ins Transplantat einwandernden Zellen zu untersuchen.

Die Messungen wurden entsprechend den Ausführungen unter Punkt 3.4 durchgeführt. Für die Coulter Counter-Messung benötigt man jeweils 20 ml Probenflüssigkeit. Dazu wird das Aspirationsmaterial etwa 1 : 10 bis 1 : 20 verdünnt, damit bei den späteren Bestimmungen der Zählbereich in einer Spanne liegt, in der das Gerät exakt zählt. (38) Das bedeutet, daß für eine Zählung vom Aspirationsmaterial, das in 5 ml Nährmedium gelöst ist, ca 1 - 2 ml benötigt werden und somit noch genügend Material für Zytozentrifugenausstriche und andere Tests übrig bleibt.

Die Menge des in 5 ml Nährmedium gelösten, aspirierten Materials kann nicht genau ermittelt werden und ist wie in Punkt 5.2.1 beschrieben mit peripherem Blut kontaminiert. Schon gar nicht ist es möglich, exakt zu bestimmen, wie groß das Volumen des Transplantatbezirks ist, aus dem die Anzahl der aspirierten Zellen gewonnen wurde. Nur wenn man dies erreichen könnte, wären Rückschlüsse auf die Dichte der zellulären Transplantatreaktion erlaubt, ähnlich wie es dem Pathologen durch die Betrachtung von Gewebsschnitten möglich ist. Auch mit Hilfe des Coulter Counters kann bisher keine "absolute" Anzahl von inflammatorischen Zellen pro Volumen Nierengewebe berechnet werden, sondern nur ein "relatives Verhältnis" von Leukozyten pro 1 Million Erythrozyten in der FNB und im p. B., wie in Punkt 3.4.5 beschrieben. Deshalb muß auch die Verdünnung für die Zählung der weißen Blutkörperchen nur ungefähr 1 : 10 bis 1 : 20 sein. Die weitere Verdünnung von nochmals 1 : 100 für die Bestimmung der roten Blutkörperchen muß jedoch äußerst exakt erfolgen, damit so auch das später berechnete Verhältnis von Leukozyten zu Erythrozyten bei allen Proben exakt vergleichbar ist.

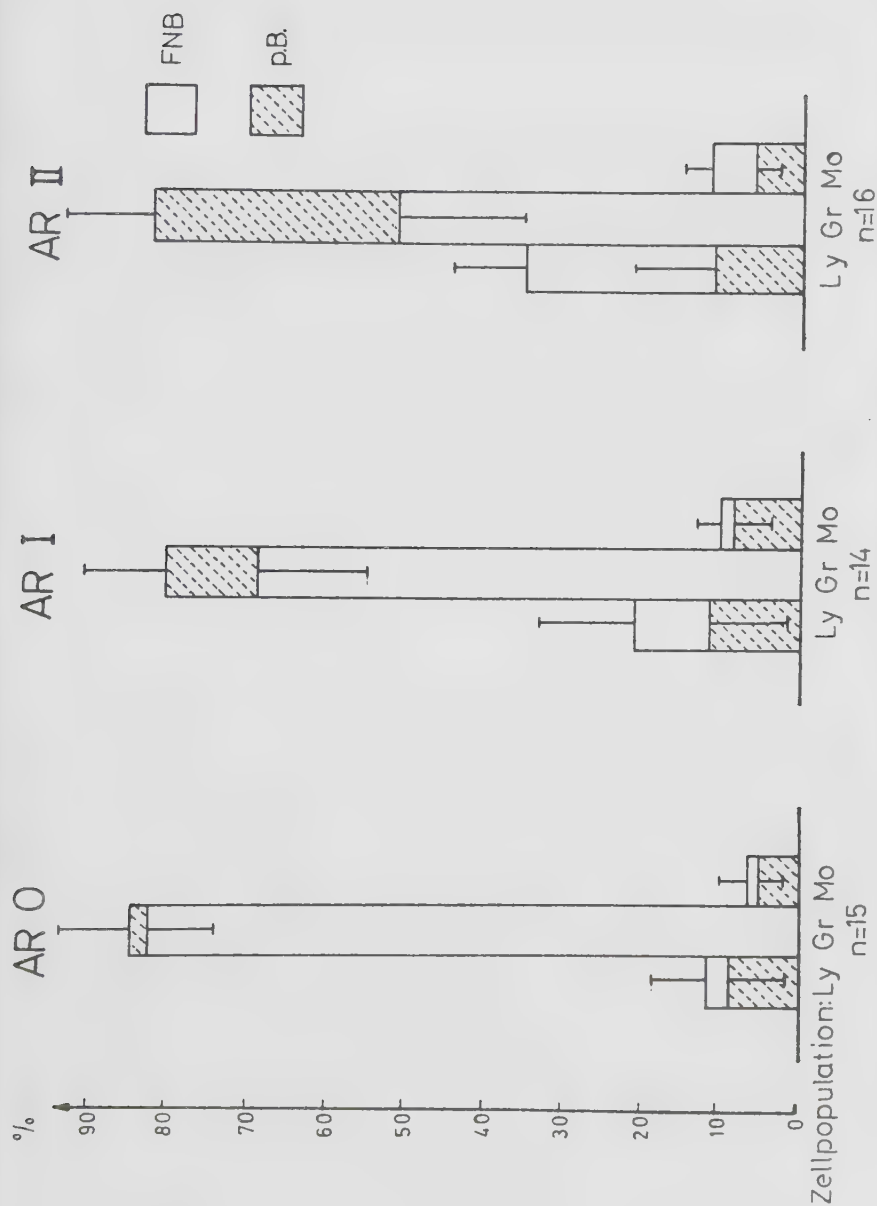


Abbildung 42: Prozentsatz von Lymphozyten (Ly), Granulozyten (Gr) und Monozyten (Mo) im peripheren Blut (p.B.) und in der Feinnadelbiopsie (FNB)

Die Berechnung des Verhältnisses von Leukozyten pro 10^6 Erythrozyten in FNB und im p.B. ist in Punkt 3.4.5 beschrieben. Das Mehr an Leukozyten in der FNB muß aus der Niere stammen und entspricht den rein inflammatorischen Zellen (siehe Beispiel Punkt 3.4.5).

Zwei Voraussetzungen sind für diese Berechnungen wichtig:

- a) Das durch die Niere fließende Blut muß im Verhältnis von Leukozyten zu Erythrozyten dem peripheren Blut, das als Kontrolle dem Patienten abgenommen wird, entsprechen. Die eigenen Ergebnisse belegen dies. Aspirate, bei denen einige wenige, sichere Nierengewebszellen aufgefunden wurden, beweisen, daß sie aus dem Nierenparenchym stammen. Da die Nierengewebszellen in diesen gefärbten Präparaten jedoch nur sehr vereinzelt auftreten und nur höchstens 1 - 2 NGZ pro 100 oder mehr Leukozyten zu finden sind, müssen die Aspirate fast ausschließlich aus Blut, welches die Niere durchfließt, bestehen. Tatsächlich entspricht das mit Hilfe des Coulter Counters bestimmte Verhältnis von Leukozyten pro 10^6 Erythrozyten dieser Aspirate ziemlich exakt demjenigen aus den entsprechenden peripheren Blutproben. (Siehe Punkt 4.4.2) Daraus ergibt sich, daß peripheres Blut und Nierenblut sich in der Verteilung von Leukozyten zu Erythrozyten gleichen.
- b) Im Interstitium des Transplantates dürfen keine bzw. nur vernachlässigbar wenige Erythrozyten sein. E. v. Willebrand und P. Häyry machten bereits 1978 Untersuchungen über die Zusammensetzung inflammatorischer Zellen in abgestoßenen menschlichen Nierentransplantaten. Sie perfundierten die Transplantate sorgfältig, um Blut weitgehend aus den Gefäßen zu entfernen und stellten dann aus dem Nierengewebe ein Zelldispersat her. (132) Damals fanden sie im Durchschnitt 0,5 rote Blutkörperchen pro 1 weißen Blutkörperchen im Dispersat. Im Vergleich dazu betrug der entsprechende Quotient im Blut 88 rote zu 1 weißen Blutkörperchen. Diese minimale Zahl roter Blutkörperchen im Dispersat schrieben sie einer minimalen Kontamination mit Blut zu, welches bei der Perfusion nicht vollständig beseitigt wurde. In weiteren Studien fanden sie sogar eine noch geringere Kontamination. (133)

Das Verhältnis von Erythrozyten zu Leukozyten lag dann im Dispersat bei 0,3/1 und im peripheren Blut bei 200/1. Diese Tatsache zeigt, daß der Anteil von Erythrozyten, die möglicherweise die Kapillaren verlassen und im Interstitium zu finden sind, wenn überhaupt vernachlässigbar klein ist.

Eine große Hilfe bei den Zählungen mit dem Coulter Counter Gerät ist der Alarm Threshold. Wird die Öffnung der Meßröhre durch Staub, große Nierengewebszellen oder Verbänden von einigen NGZ verlegt und kann so keine Probenflüssigkeit mehr angesaugt und gezählt werden, ertönt ein Alarm und die Zählung wird abgebrochen. Falsche Ergebnisse werden somit vermieden. (38)

5.3 Ergebnisse

5.3.1 Feinnadelbiopsie

Laut P. Häyry soll eine FNB mindestens 10 NGZ pro 100 Leukozyten aufweisen. (67) Bei der Bewertung der eigenen Aspirete wurde während der ersten 2 - 3 Monate nicht exakt die Anzahl der NGZ/100 Leukozyten bestimmt, sondern eine FNB als bewertbar befunden, sobald überhaupt eindeutige NGZ aufgefunden wurden. Im weiteren Verlauf der Untersuchungen wurden die Maßstäbe strenger gezogen. Genügten uns zunächst mindestens 5 NGZ für die Bewertbarkeit, wurden bald nur noch Aspirete mit mindestens 10 NGZ/100 Leukozyten bewertet. Erst bei dieser Anzahl ist die Sicherheit gegeben, daß die Kontamination des Aspirates mit Blut gering ist und das Ergebnis repräsentativ. Die Maßstäbe für die Bewertbarkeit der Aspirete wurden streng festgelegt und so eher auf eine Bewertung verzichtet, als eine falsch negative Aussage zu riskieren. Die Folge dieser strengen Norm ist der relativ hohe Prozentsatz fraglich und nicht bewertbarer Aspirete von 26 %.

Bei der eigenen Auswertung wurde Lymphoblasten ein C.I.-Faktor von 1,0 und allen anderen Formen von kleinen Lymphozyten, Large Granular Lymphocytes und aktivierten Formen der Faktor 0,1 zugeteilt. Auf dem 1. Workshop für Feinnadelbiopsie und Aspirationszytologie im Institut für Chirurgische Forschung in München 1982 wurden die unterschiedliche Rolle und immunologische Wertigkeit der einzelnen Zellpopulationen erneut diskutiert. Den LGL's werden z. B. natürliche Killerzellaktivitäten zugeschrieben. (68, 113) Nach den Erfahrungen der Gruppen von P. Häyry und C. Hammer wurde schließlich ein neuer differenzierterer Auswertungsbogen für die FNB entworfen. LGL's und aktivierte Lymphozyten erhielten so einen Corrected Increment-Faktor von 0,2 bzw. 0,5. Das Ergebnis dieser Diskussion war der Bewertungsbogen, der in Abb. 43 dargestellt ist.

Transplantationszentrum
 Inst. f. Chirurgische Forschung
 Klinikum Großhadern
 Universität München

Biopsie Nr.
 Datum:
 Tag post Tx:

Pat.-Name: _____ Nr.: _____ Tag der Tx: _____

Zusammenfassung der wichtigsten klinischen Daten:

Parameter:	vorgestern	gestern	heute	Klinische Bewertung der Tx-Funktion:
Temperatur				Verlauf: <u>stabil</u> <u>besser</u> <u>schlecht</u>
S.-Creat.				ATN
Urinmenge				Abstoßung
MP				Virusinfekt
CyA				ES.-Toxizität
ALG/ATG				Stanzbiopsie

Klinische Bemerkungen, Probleme: _____

Ergebnisse (MGG)

	FNAB	Blut	Incr.	CF	CI.	
100 % §						
Lymphoblasten				1.0		Gesamt- C. I.:
Plasmabl. u. Plasmaz. aktivierte Lymphoz.				1.0		
LGL				0.5		
Lymphozyten				0.2		
PMN: Juvenile Formen				0.1		
Neutrophile				0.1		
Eosinophile				0.1		
Basophile				0.1		
Monoblasten				1.0		
Monozyten				0.2		
Makrophagen				1.0		
Andere				0.0		
Gewebezellen: Endothelzellen			Morphologiewert &: EC:			
Tubuluszellen			TC:			
Andere						

Leukozyten-(MGG)-Differenzierung beträgt 100 %. Gewebezellen werden im gleichen Gesichtsfeld ausgezählt, aber nicht in das Differentialblutbild einbezogen.

TC-Morphologiewert: 0 = keine Veränderung; 1 = Schwellung; 2 = Schwellung und Vakuolisierung; 3 = Schwellung, Vakuolisierung und Einschlüsse (z. B. Erythrophagozytose); 4 = Nekrose

Bewertung:

Tabelle 43: "Neuer" Bewertungsbogen für die FNB

5.3.2 Vergleich FNB - Stanzbiopsie

Feinnadelaspirationszytologie und Histologie bearbeiten beide direkt aus dem Transplantat gewonnenes Zell- bzw. Gewebsmaterial. Mit der FNB werden ca 20 µl Einzelzellen aspiriert, bei der Stanzbiopsie erhält man einen Gewebszylinder. (111) Das Zytologische Zytozentrifugenpräparat repräsentiert Parenchymzellen und Infiltrationszellen. Der histologische Gewebsschnitt zeigt eine Ebene durch das Transplantat.

Die Feinnadeibiopsie kann, da wenig invasiv, in kurzen Abständen angewendet werden. Damit kann der Verlauf der Ereignisse im Transplantat genau verfolgt werden. (Siehe Punkt 5.2.1) Die Abschätzung erfolgt an Einzelzellen und erlaubt die exakte Differenzierung der Leukozyten, ihre Subpopulationen und Aktivitätsgrade. Mit Hilfe des C. I. erlaubt diese Auswertung eine Einschätzung akuter zellulärer Abstoßungsreaktionen (siehe Punkt 3.1.5). Mit monoklonalen Antikörpern gelingt es weiter, semiquantitativ die Phänotypen bzw. Funktionsstadien der Lymphozyten zu determinieren. (60, 115, 116) Da im Gegensatz zur Stanzbiopsie Gewebs- und Entzündungszellen als Monolayer durch Zytozentrifugieren abgeplattet vorliegen, kann bei extremer Vergrößerung die pathologische Veränderung der Einzelzellen besser erfaßt werden. Ischämie, Cy-A-Nephrotoxizität, ALG-Effekt und Schäden durch Abstoßungsreaktionen haben typische Merkmale. (57, 127, 135)

Die Stanzbiopsie erlaubt die Bewertung der Dichte der Infiltrate, ihrer Ausdehnung und Verteilung unter Abstoßungsreaktion. Zusätzlich können die Hauptzellpopulationen erkannt werden. Pathologische Veränderungen im Sinne von Ischämie und Cy-A-Nephrotoxizität gehören weiterhin zu ihren Erkennungsmöglichkeiten. Die Histologie allein erlaubt aufgrund der erhaltenen Gewebsintegrität eine Beurteilung der Organstruktur sowie der anatomischen Funktionseinheiten, wie Gefäßsystem, Tubulussystem, Glomerula und Interstitium. (12, 47, 98, 136) Aussagen zu chronisch interstitieller Transplantatnephritis, Transplantatvaskulopathie und Transplantatglomerulopathie, sowie zur Rekurrenz vorbestehender Grunderkrankungen im Transplantat sind somit der Histologie allein vorbehalten. (47, 111) Der massive traumatische Eingriff gestattet die Anwendung nur in großen Zeitabständen und ist relativ häufig mit Komplikationen verbunden (siehe Punkt 5.2.2)

Der Vergleich der zytologischen und histologischen Befunde meiner Arbeit bezieht sich ausschließlich auf die Aussagen beider Methoden zur zellulären Transplantatinfiltration. Die Ergebnisse der Übereinstimmung darin sind in Punkt 4.2.2 aufgeführt.

Die 59 übereinstimmenden Fälle mit höchstens 1/2 Grad Abweichung in der Bewertung beider Methoden sind über alle Abstoßungsgrade gleichmäßig verteilt. Es dominieren lymphozytäre Infiltrationen (C.I.-Faktor 0,1), so daß die differente Gewichtung des C.I. mit Blasten (C.I.-Faktor 1,0), Monozyten (C.I. 0,2) und Makrophagen (C.I. 1,0) nicht zum Tragen kommt. Im einzelnen sind von den 22 Biopsie-Paaren, die vollkommen übereinstimmen fünf Grad 0 / 0 - I, elf Grad I / I - II, und sechs Grad II und darüber. Das durchschnittliche C.I. beträgt $2,1 \pm 1,4$, davon geht $1,2 \pm 0,9$ auf Kosten der Lymphozyten und $0,7 \pm 0,6$ auf Kosten der Monozyten. Der geringe Rest des Inkrements wird durch vereinzelte Blasten und Makrophagen abgedeckt. Von den 29 Paaren, die nur um ein halbes Grad differieren, gehören 8 zu Grad 0 / 0 - I, 12 zu Grad I oder I - II und 9 zu Grad II und darüber. Das durchschnittliche Increment dieser Gruppe ist $2,5 \pm 1,3$, davon $1,2 \pm 1,0$ Lymphozyten und $1,0 \pm 0,7$ Monozyten. Bei den 17 Biopsien, die um ein ganzes Grad differieren, zeigt sich bereits eine etwas inhomogenere Verteilung über die verschiedenen Abstoßungsgruppen. 7 Feinnadelaspirate zeigen keine Abstoßung Grad 0 oder 0 - I, nur eine liegt in der mittleren Gruppe von AR I / I - II, dagegen zeigen 9 eine massive Abstoßungsreaktion Grad II und mehr. Von diesen 17 Biopsien liegt bei den 10 Fällen, die in der FNB eine Infiltration von mindestens Grad I besitzen, die Bewertung in Form des C.I. jeweils 1 Grad höher als die pathologische Beurteilung. In 5 Fällen beruht diese höhere Bewertung der FNB auf hohen Monozyten- und Lymphoblastenincrements. In den anderen Fällen ist die Ursache der Diskrepanz allerdings die reine Lymphozytenanreicherung. So liegt das durchschnittliche C.I. mit $4,5 \pm 1,9$ dieser Fälle beträchtlich höher als das der zuvor gezeigten Biopsiepaare mit absoluter Übereinstimmung. Vom Gesamtincrement entfällt $2,1 \pm 0,8$ auf Lymphozyten, $1,5 \pm 1,2$ auf Monozyten und immerhin $0,7 \pm 1,2$ auf Blasten. Trotz dieser Abweichung bedingt durch die differenzierte Gewichtung des C.I. zeigen beide Methoden in 9 dieser 10 Fälle eine typische Inflammation von mindestens Grad I, so daß hier keine falsch negative Beurteilung in beiden Methoden vorliegt. Lediglich in 1 Fall signalisiert die Zytologie eine Abstoßung Grad I, während die Stanzbiopsie keine Zeichen einer Inflammation zeigt.

In den 7 Fällen, in denen die Bewertung der FNB 1 Grad niedriger als die entsprechende der Nierenbiopsie liegt, ist das mittlere C.I. nur $0,6 \pm 0,4$, davon Lymphozyten und Monozyten jeweils $0,3 \pm 0,3$. In 3 dieser Fälle waren die Asparate relativ stark durch peripheres Blut kontaminiert, was mit den zytologischen Mitteln wie NGZ / 100 Leukozyten nicht exakt erkannt wurde. In 4 Fällen wurde die Berechnung des Increments durch die hohe Granulozytenzahl beherrscht, die bei der Berechnung des C.I. nicht ins Gewicht fallen. Erst die Anwendung der Coulter Counter Berechnungen macht es seit kurzem möglich, solche Fälle exakt wahrzunehmen.

Mehr als 1 Grad Differenz zeigen 10 weitere Biopsiepaare. In dieser Gruppe sind nur 2 Feinnadelasparate mit keiner Inflammation Grad 0 / 0 - I und nur eine mit Grad I. Siebenmal zeigt die FNB eine Abstoßungsreaktion Grad II oder mehr an. Diese 7 Fälle liegen auch alle mehr als 1 Grad über der Bewertung der Histologie. Die Diskrepanz entsteht in allen Fällen durch die hohen Monozyten-, Lymphoblasten- und Makrophagen-Zahlen in den Aspiraten. So liegt bei diesen Fällen das mittlere C.I. bei $8,8 \pm 1,5$, davon fällt nur $2,1 \pm 1,2$ auf die Lymphozyten, dagegen $3,0 \pm 1,3$ auf die Monozyten und sogar $3,7 \pm 2,0$ auf Blasten und Makrophagen.

In den 3 Fällen, in denen die Bewertung der FNB um mehr als 1 Grad unter der der Stanze liegt, ist wiederum zu starke Kontamination der Asparate mit Blut Ursache für die differierende Aussage beider Methoden. Diese Fälle können, wie bereits erwähnt, mit Hilfe der Coulter-Counter-Berechnungen sicher vermieden werden.

Zusammenfassend wird festgehalten, daß von 78 Biopsiepaaren 51 eine vollkommene Übereinstimmung mit einer Diskrepanz von höchstens 1/2 Grad zeigen. In 17 Fällen signalisieren beide Methoden eine eindeutige zelluläre Inflammation, wobei die Bewertung der Aspirationszytologie in den meisten dieser Fälle bedingt durch die differenzierte C.I.-Berechnung höher liegt. Bei hohem Aktivitätsgrad nämlich scheint die Berechnung des C.I. mit den hohen Werten für Monozyten und aktivierten Zellen von der Dichte der Inflammation zu differieren.

So gesehen wurde die akute zelluläre Abstoßungsreaktion mit beiden Methoden in 68 Fällen entsprechend 87 % erkannt und die Information für den Arzt in der Klinik ist gleich ausgefallen.

In 10 Fällen entsprechend 13 % wies jeweils eine von beiden Methoden keine Inflammation, die andere jedoch mindestens Grad I auf. Meistens lag der Grund bei den Aspiraten, die entweder zu stark mit peripherem Blut kontaminiert waren oder in denen die Granulozyten zahlenmäßig überwogen. Beide Situationen sind durch Einführung der Coulter-Counter-Bestimmungen seit einiger Zeit eindeutig zu verifizieren und so ist in Zukunft eine noch bessere Übereinstimmung beider Methoden zu erwarten. (83)

Auf Grund ihrer gegenseitigen Vorteile, (41) der unterschiedlichen Aussagekraft und der hervorragenden Übereinstimmung sollten daher beide Methoden als sich komplettierend betrachtet werden. (33, 44)

5.3.3 Vergleich FNB - Klinik

In Punkt 4.3.1 ist das Ergebnis der Höhe zellulärer Inflammation in den Aspiraten dargestellt, bei denen mit den Methoden der Mikrobiologie gesichert werden konnte, daß zum jeweiligen Zeitpunkt eine Virusinfektion florierte. Es stellt sich die Frage, ob die Inflammation eine zusätzliche akute Abstoßungsreaktion bedeutet, die immunsuppressiv behandelt werden muß, oder als virus-spezifische Begleitreaktion, die durch Abstoßungstherapie sogar verschlechtert würde, anzusehen ist. Die sichere Differenzierung von Abstoßung und Virusinfektion ist gerade deshalb eine so wichtige Frage für unsere Methode, da der Arzt in der Klinik es besonders schwer hat, anhand der klinischen Parameter zu einer sicheren Diagnose zu gelangen.

In beiden Fällen nämlich kommt es zu einer Verschlechterung der Nierenfunktion mit sinkender Ausscheidung und steigendem Serum-Kreatinin. Beide Ursachen sind zudem meist von Fieber begleitet. Zu Beginn unserer Auswertungen wurde jede Inflammation als Zeichen einer Abstoßungsreaktion gewertet. An einigen Patienten fiel jedoch auf, daß immunsuppressive Behandlung der zellulären Inflammation zu keinerlei Besserung der Symptomatik führte, sondern im Gegenteil diese weiter verschlechterte. Nach Absetzen der Therapie hingegen besserte sich das Befinden schlagartig. In diesen Fällen ergaben die Untersuchungen der Mikrobiologie, daß es sich um eine Virusinfektion gehandelt hat.

Aus der Art der Inflammation und der Zusammensetzung der Zellpopulationen im peripheren Blut und im Aspirat lernten wir eine Virusinfektion zu erkennen. So deutet eine Leukozytose mit einem hohen Prozentsatz mononukleärer Zellen im Blut auf eine Infektion mit Epstein-Barr-Virus hin (Mononucleosis infectiosa). (50) Art der Aktivierung der Lymphozyten sowie eine hohe Zahl von "Large Granular Lymphocytes" in Blut und Aspirat geben weiteren Anhalt für eine ablaufende Virusinfektion. (126) Die Bestimmung der Subpopulationen von Lymphozyten mit Hilfe monoklonaler Antikörper läßt seit einiger Zeit eine sichere Aussage zu. Eine Umkehr der Okt 4 zu Okt 8 positiven Zellen zugunsten der Okt 8 positiven im p.B. bestärkt die Diagnose am gleichen Tag. (60, 115, 116) Der endgültige Beweis mit serologischen Tests benötigt mehrere Tage.

Weiterhin hat der Arzt in der Klinik besondere Probleme bei der Beurteilung von Transplantaten, die aufgrund einer ischämisch bedingten akuten Tubulusnekrose (ATN) noch keine Funktion aufgenommen haben, und die Patienten seit der Operation dialysepflichtig sind. Hier versagen die klinischen Parameter einer eventuell hinzukommenden akuten Abstoßungsreaktion, wie Ausscheidungsrückgang und Kreatininanstieg vollständig. Die große Hilfe der FNB gerade in diesen Fällen wurde von P. Häyry schon wiederholt betont. (69, 70) Im Punkt 4.3.2 ist aufgeführt, daß insgesamt 17 Patienten, die mit Hilfe der FNB untersucht wurden, aufgrund einer ATN postoperativ dialysepflichtig waren, keine eindeutigen Zeichen einer Abstoßungsreaktion boten und dennoch auf Verdacht innerhalb der ersten zwei Wochen postoperativ mit 3 mal 500 mg Methylprednisolon sicherheitshalber behandelt wurden. Diese Patienten bedurften in den darauffolgenden Wochen keiner weiteren Abstoßungstherapie. Bei 11 dieser Personen zeigte die FNB keinen Anhalt für ein zelluläres Geschehen. Nur bei 6 Patienten wies die FNB eine Abstoßung von mindestens Grad I auf und läßt von Seiten der Zytologie die Behandlung als gerechtfertigt erscheinen. Bei 9 anderen Patienten war in der FNB im Zeitraum notwendiger Dialyse postoperativ eine AR von mindestens Grad I diagnostiziert worden. In diesen Fällen deuteten auch die klinischen Parameter, wie Fieber, Vergrößerung und Schmerzhaftigkeit des Transplantates, eindeutig auf eine Abstoßung hin. Jeder dieser Patienten bedurfte nach einer initialen Behandlung mit 3 x 500 mg MP weiterer immunsuppressiver Therapie mit hochdosiertem MP oder ALG bzw. ATG.

Diese Fälle zeigen nochmals, daß sicher gerade in einer anurischen Phase bedingt durch ATN oder Cy-A Nephrotoxizität die Überwachung der Ereignisse im Transplantat in kurzen Abständen mit Hilfe der Aspirationszytologie von großem Nutzen ist.

94 Aspirete wurden zu einem Zeitpunkt gewonnen, als der klinische Zustand gemäß den Richtlinien unter Punkt 3.3.5 unauffällig war und der Patient nicht unter zusätzlicher Abstoßungstherapie stand. (Siehe Punkt 4.3.3)

- **64 Aspirete** zeigen keine Anzeichen einer Inflammation (AK 0/ 0 - I)
- In **12 Fällen** findet man in der FNB eine leichte Inflammation von Grad I oder I - II am Ende oder kurz nach Absetzen einer vorangegangenen hochdosierten Abstoßungstherapie. Frühere und folgende Aspirete des gleichen Patienten (soweit vorhanden) beweisen, daß in diesen Fällen die Inflammation kontinuierlich am Abnehmen ist und so lediglich als Restzustand anzusehen ist, der keine Symptomatik mehr verursacht.
- In **3 Aspiraten** findet sich nach Absetzen einer Abstoßungstherapie jedoch ein Wiederanstieg auf Grad II - III oder III. Diesen Patienten ging es zwar zu diesem Zeitpunkt gut, sie bedurften jedoch alle innerhalb der nächsten Wochen einer erneuten Abstoßungstherapie. Die Inflammation war anscheinend durch die vorangegangene Therapie nicht vollständig beherrscht.

In diesen 79 von 94 Fällen guten klinischen Zustandes des Transplantates zum Zeitpunkt des Aspires stimmen somit die jeweiligen FNB bzw. der weitere Verlauf der Inflammation in folgenden Aspiraten mit der Klinik überein.

- in **6 FNB**, die mehrere Monate postoperativ durchgeführt wurden, findet man eine leichte Inflammation von Grad I oder I - II, entsprechend einem chronischen Ereignis, welches jedoch ohne klinisches Korrelat blieb. (63)
- In **8 Fällen** wurde innerhalb der ersten Woche postoperativ eine Inflammation im Aspirat gefunden, welche ohne klinische Beeinflussung war und unter der Basistherapie von selbst verschwand. Solche selbst limitierte Inflammationen hat auch P. Häyry bereits öfters beschrieben und bezeichnet sie als "subklinische" Inflammationen, die innerhalb der ersten Woche nach Transplantation auftreten können und von der Basistherapie bezwungen werden. (24, 33, 63, 69, 70)

- In **einem Fall** zeigte eine FNB bei Entlassung eine AR II - III. Dem Patienten ging es gut und er mußte auch in den nächsten Monaten nicht mehr gegen Abstoßung behandelt werden. Eine Verwechslung zweier Proben an diesem Tage wurde diskutiert.

Somit korrelieren 15 positive Ergebnisse in der FNB nicht mit dem klinisch unauffälligem Zustand. Chronische Inflammationen mehrere Monate postoperativ und "subklinische" Inflammationen in den ersten postoperativen Tagen sind Ursachen dieser Fälle.

83 Aspirate stammen von einem Zeitpunkt, als der klinische Zustand gemäß den Richtlinien von Punkt 3.3.5 schlecht war und der Patient kurz vor zusätzlicher Abstoßungstherapie stand. (Punkt 4.3.3)

- In **8 Fällen**, in denen das Transplantat bereits aufgegeben bzw. explantiert wurde, findet man eine starke oder sogar massive zelluläre Abstoßungsreaktion in der Zytologie.
- In **51 Fällen** zeigt der Klinik entsprechend auch die FNB eine akute zelluläre AR von mindestens Grad I an. Soweit vorhanden entspricht auch der Verlauf vorangehender und folgender Aspirate einer eindeutig zellulären Inflammation.
- In **11 Aspiraten**, die einige Tage vor Abstoßungsbehandlung noch keine Inflammation zeigten, steigt jedoch jeweils in den folgenden Befunden zu Beginn der Therapie die Inflammation deutlich an.
- In **4 FNB**, jeweils in den ersten postoperativen Tagen, hängt die Diagnose einer Inflammation bei einem behandlungsbedürftigen schlechten klinischen Zustand dem Behandlungsbeginn um wenige Tage nach.
- In **2 Fällen** war die Inflammation durch vorangegangene Therapie praktisch vollständig beherrscht und auf Grad 0 - I abgefallen. Da sich die Ausscheidung in beiden Fällen jedoch noch nicht sofort besserte, wurde sicherheitshalber eine weitere kurze Abstoßungstherapie angeschlossen. Die Transplantatfunktion kam in beiden Fällen bald in Gang. Da die immunologischen Ereignisse gemäß der FNB zuvor überwunden waren, besteht Zweifel, ob in diesen Situationen die weitere Therapie noch von Nöten war. Somit stimmen in 76 dieser 83 Fälle die Ergebnisse der einzelnen Zytologiebefunde bzw. der Verlauf der Inflammation in den weiteren Aspiraten mit dem schlechten klinischen Zustand überein.

- In 7 Fällen erfaßte die FNB eine aus klinischer Sicht behandlungsbedürftige Situation nicht. Aus diesen 7 falsch negativen Aussagen stammen 5 Aspiarte aus den Anfängen der eigenen Untersuchungen. Wie in Punkt 5.3.1 dargelegt, waren in dieser Zeit die Maßstäbe für die Bewertbarkeit von Aspiraten noch nicht exakt festgelegt. Beim rückblickenden Nachlesen dieser Präparate zeigt sich, daß diese Fälle nur wenige Nierengewebszellen aufweisen und somit stark mit Blut kontaminiert sind. Diese FNB würden bei den jetzigen Maßstäben mit mindestens 10 NGZ pro 100 Leukozyten für die Bewertbarkeit einer FNB und mit Hilfe der Coulter-Counter-Berechnungen nicht mehr beurteilt werden. Bei den beiden anderen bewertbaren FNB zeigen zum gleichen Zeitpunkt durchgeführte Stanzbiopsien ebenfalls nur eine geringe bis mäßige Infiltration an. Eventuell war der klinisch schlechte Zustand des Patienten, der die Ärzte zur Behandlung veranlaßte, durch andere Probleme bedingt.

Von 177 Aspiraten, die alle in einem Zeitraum entnommen wurden als die Patienten nicht unter zusätzlicher Abstoßungstherapie standen, ergibt sich folgende Korrelation mit dem klinischen Zustand. (Tab. 44)

AR in FNB	positiv	negativ	Summe
richtig in %	43	45	88
falsch in %	8	4	12

Tabelle 44: Korrelation von akuter zellulärer Abstoßungsreaktion (AR) in FNB und klinischer Symptomatik

In 88 Prozent korrelieren unsere Ergebnisse mit der klinischen Symptomatik. Dies unterstreicht die hohe Genauigkeit dieser Methode und ihren Wert als weiteren Parameter hinsichtlich der Beurteilung von Abstoßungsreaktion. Da zelluläre Inflammation im Transplantat der Symptomatik meist um einige Tage vorangeht, (111) kann die FNB ein frühzeitiges Alarmsignal einer drohenden Abstoßungsreaktion sein. Besonders wertvoll ist die Methode sicher bei Problemfällen, wie ATN, Cy-A-Nephrotoxizität oder Virusinfektionen, in denen die klinischen Parameter nur schwer zu beurteilen sind.

Nur in 8 Prozent geht ein positives Ergebnis in der FNB aus den oben angeführten Gründen nicht mit einer Verschlechterung von Transplantatfunktion und Patientenbefinden einher.

Wichtig ist, daß nur in 4 Prozent der Fälle ein klinisch als Abstoßungsreaktion beurteiltes Ereignis nicht durch die Zytologie erfaßt wurde. Diese Quote kann, wie schon erwähnt durch strenge Maßstäbe für die Bewertbarkeit von Aspiraten und die Einführung der Coulter Counter-Berechnungen noch weiter gesenkt werden. Somit kann bei einem negativen Ergebnis in der FNB mit ziemlicher Sicherheit gefolgert werden, daß keine akute Abstoßungsreaktion abläuft und bei Verschlechterung der Transplantatfunktion an eine andere Ursache gedacht werden muß.

Während einer Abstoßungsbehandlung wurden insgesamt 119 bewertbare Aspi-
rate entnommen. Nach den Kriterien, die unter Punkt 3.3.5 beschrieben sind, fallen davon 85 in einen Zeitraum, in dem die Abstoßungstherapie bereits Wirkung zeigt und 34, bei denen trotz zusätzlicher Behandlung der klinische Zustand unverändert schlecht ist (siehe Punkt 4.4.3).

Während bereits wirksamer Behandlung zeigt der Großteil der FNB eine niedrige Inflammation von AR 0 bis I an, doch finden sich auch eine Reihe von Aspiraten, die trotz klinisch wirksamer Therapie noch eine beträchtliche Inflammation aufweisen. Während noch nicht wirksamer Therapie beinhaltet ein weitaus größerer Anteil der Aspi-
rate eine beträchtliche Inflammation.

- Bei **48 FNB** mit Grad 0 oder 0 - I ergab sich, daß die Behandlung wirkte und die Abstoßung beherrscht war.
- In **37 Fällen** war die klinische Symptomatik bei Aspirationsgewinnung bereits rückläufig, die Zytologie diagnostizierte aber noch eine beträchtliche zelluläre Inflammation. Hier konnte, soweit durchgeführt, durchwegs in den folgenden Aspiraten auch eine Abnahme des zellulären Ge-

schehens im Transplantat verfolgt werden.

- Bei den **24 Aspiraten** mit beträchtlicher zellulärer Reaktion der Niere, bei denen die Behandlung noch keine Wirkung zeigte, und erneute Behandlungszyklen erforderlich waren, hatten dagegen folgende Asparate eine weiterhin bleibende mononukleäre Infiltration.
- **10 Asparate**, die bei schlechter Verfassung von Patient und Transplantat in einem behandlungsbedürftigen Intervall entnommen wurden, zeigten jedoch kaum ein zelluläres Geschehen in der Niere an. In 6 Fällen davon war die Inflammation durch die hochdosierte Abstoßungstherapie unterdrückt, flackerte jedoch sofort nach Absetzen der zusätzlichen Immunsuppressiva wieder auf und auch die klinische Symptomatik blieb oder wurde wieder schlecht. Erneute Abstoßungsbehandlung war nötig, was auch mit Hilfe in kurzen Zeitabständen durchgeführter Asparate gut zu erfassen war. 4 dieser Fälle mit AR 0 bzw. 0 - I wurden in den ersten 5 Tagen postoperativ biopsiert. Eine frühe akzelerierte AR wurde in diesen Fällen vermutet und bereits wenige Tage nach Transplantation massiv behandelt. Die ersten Asparate, die diesen 4 Fällen entsprechen, zeigten bei Behandlungsbeginn noch keine Inflammation an, welche sich jedoch in den darauffolgenden Tagen entwickelte und so dem Behandlungsbeginn um wenige Tage nachhängte.

Zusammenfassend wird festgehalten:

Während einer Abstoßungsbehandlung werden klinischer Verlauf und Inflammation der Niere einerseits von der Abstoßungsreaktion und andererseits von der zusätzlichen Therapie stark beeinflusst. Einzelne Asparate in einem solchen Zeitraum lassen nur sehr begrenzte Aussagen über das Verhalten beider Komponenten zu. Die Kontrolle mit Hilfe der FNB in kurzen Abständen, wie alle 2 Tage, während einer Abstoßungstherapie und in den ersten Tagen nach Beendigung eines Behandlungszyklus läßt eine sichere Aussage über zelluläre Inflammation und ihre Entwicklung und somit die Wirkung der Therapie zu. (2)

5.3.4 Coulter-Counter-Messung der FNB

Die Ergebnisse der Coulter-Counter-Berechnungen siehe Punkt 4.1 lassen folgende Schlüsse zu:

- a) Mit Hilfe der Coulter-Counter-Methode ist es möglich, exakt die Höhe der Kontamination jedes Aspirates mit peripherem Blut und seinen Leukozyten zu bestimmen. Folglich kann genau der Anteil der inflammatorischen Zellen aus dem Transplantat ausgemacht werden und daraus die Zusammensetzung der Zellen, die ins Interstitium eingewandert sind, alleine bestimmt werden. Die FNB stellt dagegen, wie schon in Punkt 5.2.1 erläutert, ein Gemisch aus diesen inflammatorischen Zellen und peripheren Blutleukozyten dar.
- b) Die entsprechenden Ergebnisse bei gut funktionierenden Transplantaten zeigen, daß fast immer eine gewisse Inflammation nachzuweisen ist ($n = 26$). Dies geht auch aus den kürzlich durchgeführten Untersuchungen von Burdick et. al. hervor. Nierenbiopsien an unauffälligen transplantierten Patienten zeigen durchwegs eine gewisse Inflammation. (25) Unseren Ergebnissen zufolge wird diese Inflammation unauffälliger Transplantate von Granulozyten beherrscht. Auch P. Häyry et. al. wiesen durch Untersuchungen von Zelldispersaten in autogen bzw. nichttransplantierten Rattennieren sogar eine Inflammation nach. In solchen gut funktionierenden Nieren fanden sie wenige mononukleäre Zellen und relativ häufig Granulozyten, die sie als "passenger leukocytes" bezeichneten. (133) Da diese Granulozyten bei der Berechnung des C.I. nicht berücksichtigt werden, entspricht die zytologische Auswertung ebenfalls dem klinischen Zustand und dem Ergebnis der Coulter Counter-Berechnungen.
- c) Nur 4 Transplantate weisen praktisch keine Inflammation auf. Alle korrelieren mit einem unauffälligen Befund von Patient und transplantierte Niere zum damaligen Zeitpunkt.

- d) Bei den 11 Aspiraten, die zu einem Zeitpunkt gewonnen wurden, als Transplantat oder Patient in schlechtem Zustand waren, überwiegen bei den rein inflammatorischen Zellen die mononukleären Zellen. Dies entspricht den Ergebnissen vieler Untersuchungen aus Biopsien abgestoßener Nieren oder Zelldispersaten aus abgestoßenen menschlichen bzw. an Tieren transplantierten Nieren. (65, 105, 107, 112, 118, 133) Die ersten Untersuchungen der Zellen, die allogene Transplantate infiltrieren, machte die Gruppe aus Boston um Dr. Strom, Dr. Tilney, Dr. Carpenter und Dr. Busch ab 1975. (26, 32, 118, 119, 121, 122)
- Da Lymphozyten und Monozyten auch bei der Berechnung des C.I. stark gewichtet werden, ergibt folglich auch der zytologische Befund eine AR entsprechend der Klinik.
- Jedoch sind auch bei diesen Aspiraten die Granulozyten deutlich an der Infiltration beteiligt. Dies entspricht auch den Ergebnissen anderer Untersuchungen, in denen beschrieben wird, daß Granulozyten in geringen Mengen ins Transplantat einwandern. (26, 32, 89, 105, 121, 122) Mit ca 30 % der inflammatorischen Zellen liegen unsere Ergebnisse etwas höher als entsprechende Zahlen aus den Untersuchungen von P. Häyry et. al. an Zelldispersaten, welche bei 10 bis 20 % Beteiligung der Granulozyten an der Inflammation liegen. (65, 70, 133) Diese Zahlen beziehen sich auf fulminante Abstoßungen von Rattennieren, die ohne jegliche immunsuppressive Behandlung waren und somit sicher nicht ganz mit den Abstoßungsreaktionen unserer behandelten Patienten zu vergleichen sind. In diesen Untersuchungen massiver zellulärer Abstoßungsreaktionen liegen dagegen die prozentualen Anteile der Monozyten und Makrophagen um einiges höher als bei unserer Studie, in der keine irreversible, massive Abstoßung von Grad III beinhaltet ist. Die in manchen Arbeiten beschriebene starke Beteiligung von Granulozyten im Finalstadium irreversibler zellulärer Abstoßungsreaktionen konnte deshalb mit unseren Ergebnissen ebenfalls nicht verifiziert werden. (61, 112)

- e) Mit Hilfe der Coulter Counter Methode ist es weiter möglich, exakt festzustellen, ob ein Aspirat bewertbar oder zu stark von peripheren Blutleukozyten kontaminiert ist. Somit können mit dieser Methode die Fälle nicht repräsentativer, falsch negativer Diagnosen bzw. zu Unrecht bewerteter Aspirationen, wie sie im Vergleich der FNB mit der Stanzbiopsie (siehe Punkt 3.2 bzw. 5.3.2) und FNB mit klinischem Zustand (siehe Punkt 3.3 bzw. 5.3.3) aufgeführt wurden, stark reduziert werden.

- f) In Aspirationen, die nach P. Häyry und E. v. Willebrand als repräsentativ anzusehen sind, (67, 73) stimmt der klinische Zustand sowohl mit den Ergebnissen der Coulter-Counter-Berechnungen als auch mit denen, die mit Hilfe des C.I. gefunden wurden, überein. Die Anwendung der C.C.-Methode ist jedoch sehr hilfreich bei der Erkennung und Beurteilung von Extremfällen, wie Aspirationen, die sehr stark mit Blut kontaminiert sind und solchen, die praktisch nur aus inflammatorischen Zellen bestehen, sogenannten extrem trockenen Aspirationen.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Die Feinnadelbiopsie ist eine äußerst komplikationsarme Methode. Sie kann im Gegensatz zur Stanzbiopsie bei Bedarf sogar mehrmals täglich am gleichen Patienten durchgeführt werden. Eine kontinuierliche Überwachung der Ereignisse im Nierentransplantat ist somit möglich. Die Bearbeitung und Beurteilung erfordern nur ca. 1 - 2 Stunden, sodaß die Befunde in kürzester Zeit dem Arzt zur Verfügung stehen.

Die Methode erlaubt eine zuverlässige Aussage über Stärke und Art der zellulären Reaktion im Transplantat. Bei der Beurteilung der FNB-Befunde müssen Art und Intensität der laufenden Abstoßungsbehandlung, postoperativer Tag sowie die klinischen Parameter berücksichtigt werden. Zweifelhafte Befunde können durch engmaschig gewonnene Aspirationen beobachtet werden. Unter Einbeziehung all dieser Faktoren kann die FNB für den Arzt eine große Hilfe bei der frühzeitigen Diagnose von Abstoßungsreaktionen und der Kontrolle der Therapiewirksamkeit sein. Vor allem bei Problemfällen wie ATN, Cy-A Nephrotoxizität oder Virusinfekten, bei denen die klinischen Parameter schwer zu beurteilen sind, leistet die FNB hilfreiche Dienste.

Zusätzlich liefert die Methode Hinweise auf pathologische Veränderungen der Tubuluszellen bei Ischämie, Cy-A-Schäden, ALG-Effekte und Schäden durch Abstoßungsreaktionen.

Aus Art und Zusammensetzung der Leukozyten im peripheren Blut und im Aspirat, sowie der Bestimmung der Subpopulationen der Lymphozyten mit Hilfe der monoklonalen Antikörper, kann eine sichere Aussage über hinzukommende Virusinfektionen gemacht werden.

Mit Hilfe der Coulter-Counter-Methode kann die Zusammensetzung der immunkompetenten Zellen, die ins Transplantat einwandern, noch genauer analysiert werden. Außerdem können Güte und Bewertbarkeit von grenzwertigen Aspiraten exakt beurteilt werden und somit falsch negative Ergebnisse nahezu gänzlich vermieden werden.

Die Stanzbiopsie erfaßt genau die Dichte, Ausdehnung und Verteilung der zellulären Inflammation in einem Transplantat. Außerdem werden Veränderungen

wie Ischämie oder Cy-A-Nephrotoxizität erkannt. Die Histologie allein kann Aussagen über die erhaltene Gewebsintegrität, die Organstruktur, sowie die anatomischen Funktionseinheiten wie Gefäßsystem, Tubulussystem, Glomerula oder Interstitium machen.

Auf Grund ihrer gegenseitigen Vorteile, der unterschiedlichen Aussagekraft und der hervorragenden Übereinstimmung sollten daher beide Methoden als sich komplettierend betrachtet werden und als wichtige Bausteine bei der Beurteilung von Nierentransplantaten angesehen werden.

7. L I T E R A T U R A N G A B E N

- 1 Aheroyd I.H.,
Gibbs M.D.
Vivano S.
Robinette R.W. On Counting Leukocytes by
Electronic Means, American
Journal of Clinical Pathology,
31/2: 188 - 192 (1959)
- 2 Ahonen J. Clinical Use of FNAB in Renal Trans-
plants, Renal Transplant Cytology,
2nd Int. Workshop, Paris 1983, 1984
Wichtig Editore, Milano, Italy: 30 - 35
- 3 Ahonen J.
Häyry P.
Willebrand E.v.
Eklund B.
Lindström L. Impact of Methylprednisolon on First
Renal Allograft Rejection
Transplantation Proceedings,
XIII/1: 328 - 331 (1981)
- 4 Albert E.
Scholz S. Das Haupthistokompatibilitätssystem
(HLA) des Menschen: Serologie, Gene-
tik und klinische Bedeutung,
Immunforschung in Klinik und Labor,
Fresenius Stiftung: 77 - 105 (1979)
- 5 Albert E. Histokompatibilitätstestung und ihre
klinische Relevanz
Transplantationschirurgie, herausge-
geben v. R. Pichlmayr, Springer-Ver-
lag: 171 - 200 (1981)
- 6 Albert E.
Scholz S. Transfusionsvorbehandlung von Empfän-
gern, Transplantationszentrum München
herausgegeben von W. Land: 158 - 160
(1982)
- 7 Alexandre G.P.I.
Murrey I.E. Further Studies of Renal Homotrans-
plants in Dogs Treated by Combined
Imurantherapy, Surgical Forum,
13: 64 - 67 (1962)
- 8 Alexandre G.P.I.
Wonigeit K.
Bunzendahl H. Immunsuppression: Transplantations-
chirurgie, herausgegeben von R. Pichl-
mayr Springer Verlag: 212 - 228 (1981)
- 9 Allen J.D.
Gudaitis A.V. Diluting Fluid for Electronic Counting
of Leukocytes and Hemoglobin Determi-
nations, American Journal of Clinical
Pathology, 33/6: 553 - 56 (1960)
- 10 Aznar J.B.
Tilney N. Cy-A: A More Specific Immunosuppressive
Agent, The Journal of Clinical Surgery,
1/1: 53 - 61 (1982)

- 11 Balch Ch.M.
Diethelm A.G. Current Research Review: The Pathophysiology of Renal Allograft Rejection: A Collective Review, Journal of Surgical Research, 12: 350 - 377 (1972)
- 12 Beaudoin J.G.
Guttmann D.
Morehouse D.D.
Knaack J.
Chassot P.G. Improvement in Cadaveric Renal Transplant Survival, Archives of Surgery, 107: 245 - 249 (1973)
- 13 Becher H.
Kaltwasser J.P. Die Volumenverteilungskurve der Erythrozyten in der hämatologischen Diagnostik, Deutsche Medizinische Wochenschrift Nr. 32/9. August: 1514 - 1523 (1968)
- 14 Begemann H. Praktische Hämatologie, Thieme Verlag 1982
- 15 Brecker G.
Schneidermann M.
Williams G.Z. Evaluation of Electronic Red Blood Cell Counter, American Journal of Clinical Pathology, 26/12: 1439 - 1449 (1956)
- 16 Borel J.F.
Feurer C.
Gubler H.U. Biological Effects of Cyclosporin-A A New Antilymphocytic Agent, Agent Actions, 6: 468 (1976)
- 17 Borel J.F.
Feurer C.
Magnee C.
Stähelin H. Effects of the New Antilymphocytic Peptide Cyclosporin A in Animals, Immunology, 32: 1017 - 1025 (1977)
- 18 Brendel W. The Clinical Use of ALG Transplantation Proceedings, III: 280 - 286 (1971)
- 19 Brendel W. Antilymphozytenglobulin heute, Münchner Medizinische Wochenschrift, 115: 241 - 248 (1973)
- 20 Brendel W.
Ring J.
Seifert J. Experimental and Clinical Aspects of ALG, Prog. Immunology, 5: 245 (1974)
- 21 Brendel W.
Seifert J.
Ring J. Die klinische Anwendung von Antilymphozytenglobulin, Münchner Medizinische Wochenschrift, 117: 1361-68 (1975)
- 22 Buchanan I.M. The Enzymatic Synthesis of the Purine Nucleotides, Harvey Lect., 54: 104 - 130 (1958 - 195)
- 23 Burckhardt J.
Guggenheim B. Cyclosporin A: In Vivo and in Vitro Suppression of Rat T-Lymphocyte Function, Immunology, 36: 753-57 (1979)

- 24 Burdick J.F.
Beschoner W.E.
Smith W.J. Lymphocytes in Early Routine Renal
Allograft Biopsies, Abstracts:
10. International Congress of the
Transplantation Society, Minneapolis,
Minnesota, August 26 - 31 (1984)
- 25 Burdick J.F.
Beschoner W.E.
Smith W.J.
et. al. Characteristics of Early Routine Renal
Allograft Biopsies, Abstracts: 10.
Annual Scientific Meeting: American
Society of Transplant Surgeons, May 31
- June 1 (1984) Chicago
- 26 Busch G.J.
Schamberg J.F.
Moretz R.C.
Strom T.B.
Tilney N.L.
Carpenter Ch.B. T and B Cell Patterns in Irreversibly
Rejected Human Renal Allografts,
Laboratory Investigation, 35/3p:
272 - 282 (1976)
- 27 Calne R.Y.
White D.J.G.
Thiru S. et. al. Cyclosporin A in Patients Receiving
Renal Allografts from Cadaver Donors
Lancet, December 23 & 30: 1323 1327
(1978)
- 28 Calne R.Y.
Rolles K.
White D.J.G. et. al. Cyclosporin A Initially as the Only
Immunosuppressant in 34 Recipients of
Cadaveric Organs: 32 Kidneys,
2 Pancreases and 2 Livers, Lancet,
November 17: 1033 - 1036 (1979)
- 29 Calne R.Y. Immunosuppression for Organ Grafting
Observations on Cy-A, Immunological
Review, 46: 113 - 124 (1979)
- 30 Calne R.Y. Immunosuppression - Adaptation of
Laboratory Experience to Clinical
Practice, Praxis der Nierentransplan-
tation, herausgegeben v. F.W. Albert
Schattauer Verlag: 69 - 77 (1980)
- 31 Calne R.Y.
White D.J.G. The Use of Cy-A in Clinical Organ
Grafting, Annual Surgery, September:
330 - 337 (1982)
- 32 Carpenter C.B. The Cellular Basis of Allograft
Rejection, Immunology Today, March:
50 - 54 (1981)
- 33 Castro L.A
Hammer C.
Land W.
Hillebrand G.
Gurland H.J. Clinicopathologic Evaluation of Fine-
Needle Biopsy in Kidney Transplant,
Transplantation Proceedings, XIV/1:
196 - 197 (1982)
- 34 Cohen B. Eurotransplant Report, Leiden 1978

- 35 Cohen B. Eurotransplant Manual, Leiden 1979
- 36 Cohen B. Annual Report, Leiden 1981
- 37 Coulter Electronics GmbH. Bedienungsanleitung für den Coulter Dual Diluter III, 7. Ausgabe: Mai 1978
Coulter Electronics GmbH. Gahlings-
pfad 53, Krefeld
- 38 Coulter Electronics GmbH. Instruction Manual for the Coulter Counter - Model ZM, Coulter Electronics Limited, Northwell Drive, Luton, Beds., Lu 33 RH, England, Issue B: February 1982
- 39 D'Angelo G. A Practical Diluent for Electronic
Lacombe M. White Cell Counts, The American Journal of Clinical Pathology, 38/6: 658 - 662 (1962)
- 40 Doré C.F. A Device for Preparing Cell Spreads
Balfour B.M. Immunology, 9: 403 - 405 (1965)
- 41 Droz D. Renal Transplant Fine Needle Aspiration
Campos H. Cytology: Correlations to Renal Histo-
Noel L.H. logy, 2nd International Workshop,
Adafer E. Paris, 1983, 1984 Wichtig Editore
Kreis H. Milano, Italy: 59 - 65
- 42 Dunn D. Prolongation of Kidney Survival During
White D. and After Cy-A-Therapy
Herbertson B. Transplantation, 27/5:
Wade J. 359 - 361 (1979)
- 43 Dunn D. Detrimental Effect of Steroids on Cy-A-
White D. Induced Prolonged Allograft Survival
Herbertson B. Transplantation Proceedings, XII/2:
Rolles K. 335 - 338 (1980)
- 44 Egidi F. Comparison of Renal Biopsy (RB) and
Vecchi A. de Fine Needle Aspiration Biopsy (FNAB)
Banfi G. in Renal Transplant (Tx), Abstracts:
10. International Congress of the
Transplantation Society Minneapolis,
Minnesota, August 26.-31. (1984)
- 45 Ewald R.W. Die direkte serologische Crossmatch-
Reaktion vor Nierentransplantation
Praxis der Nierentransplantation
herausgegeben: F.W. Albert, Schat-
tauer Verlag Stuttgart: 41 - 51
(1980)
- 46 Fauci A.S. Immunosuppressive and Anti- Inflamma-
tory Effects of Glucocorticoids
Monographs on Endocrinology, 12:
449-465 (1979)

- 47 Finkelstein F.O.
Siegel N.J.
Bastl Ch.
Forrest J.N.
Kashgarian M. Kidney Transplant Biopsies in the
Diagnosis and Management of Acute
Rejection Reactions, Kidney Inter-
national, 10: 171 - 178 (1976)
- 48 Fischer R. Allgemeine Immunologie und Immun-
pathologie in: Lehrbuch der allge-
meinen Pathologie und der Patho-
logischen Anatomie, herausgegeben:
M. Eder und P. Gedigk, Springer
Verlag: 179 - 206 (1977)
- 49 Gebrauchsinformation Azathioprin, Deutsche Wellcome GmbH
- 50 Gerner W.D. Übertragbare Krankheiten in: Lehr-
buch der Inneren Medizin von Gross,
Schölmerich, Schattauer Verlag -
Stuttgart - New-York: 90 (1977)
- 51 Grant J.L.
Britton M.C.
Kurtz Th. Measurement of Red Blood Cell Volume
with the Electronic Cell Counter
American Journal of Clinical Patho-
logy, 33/2: 138 - 143 (1960)
- 52 Griffith B.
Hardesty R.
Deeb M.
Starzl Th. Cardiac Transplantation with Cy-A and
Prednisone, Annual Surgery, 196/3:
324 - 329 (1982)
- 53 Guttmann R.D. Medical Progress - Renal Transplan-
tation (First of Two Parts), The New
England Journal of Medicine, 301/18:
975 - 982 (1979)
- 54 Hahn B.H.
Mac Dermott R.P.
Jacobs S.B.
Pletscher L.S.
Beale M.G. Immunosuppressive Effects of Low Doses
of Glucocorticoids: Effects on Auto-
logous and Allogenic Mixed Leucocyte
Reactions, Journal of Immunology,
124: 2812 - 2817 (1980)
- 55 Hallmann L. Klinische Chemie und Mikroskopie,
Thieme Verlag Stuttgart 10. Auflage:
338 - 353 (1966)
- 56 Hammer C.
Mayer P.
Kreuzer E.
Land W. Feinnadelaspirationszytologie zur
Diagnose von Nierentransplantatab-
stoßung, Langenbecks Arch.Chir. 355:
642 (1981)
- 57 Hammer C.
Land W.
Mayer P. Fine Needle Aspiration Cytology on
Human Kidney Transplants under
ALG-Therapy, European Surgical
Research, 13: 78 (1981)

- 58 Hammer C.
Land W.
Hillebrand G.
Rössler E. Überwachung von Nierenabstoßungs-
reaktionen durch Feinnadelaspirations-
zytologie, Chirurgisches Forum 82,
herausgegeben G. Weller, Springer Verl.
Langenbecks Archiv, Chir. Suppl.: 17
(1982)
- 59 Hammer C. Kontrolle von Nierentransplantatab-
stoßungen, Münchner Medizinische
Wochenschrift 124/43: 929 - 931
(1982)
- 60 Hammer C.
Land W.
Stadler J.
Koller Ch.
Brendel W. Lymphocyte Subclasses in Rejecting
Kidney Grafts Detected by Monoclonal
Antibodies, Transplantation Proceedings,
XV/1: 356 - 360 (1983)
- 61 Hancock W.W.
Thomson N.M.
Atkins R.C. Monoclonal Antibody Analysis of Inter-
stitial Cell Infiltrate during Human
Renal Allograft Rejection, Transplan-
tation Proceedings, XV/1: 352 - 355
(1983)
- 62 Harder F. Cyclosporine: An Overview, Transplan-
tation Proceedings, XVI/5:
1221 - 1222 (1984)
- 63 Häyry P. Transplant Aspiration Cytology:
Background and Current Applications
Renal Transplant Cytology 2nd Int.
Workshop, Paris 1983, 1984 Wichtig
Editore, Milano, Italy: 7 - 21
- 64 Häyry P.
Soots A.
Willebrand E. v.
Wiktorowicz K. Composition, Subclass Distribution,
and Preliminary Analysis of the
Functions of Host Inflammatory Cells
Infiltrating Renal Allografts During
Rejection, Transplantation Proceedings,
XI/1: 785 - 789 (1979)
- 65 Häyry P.
Willebrand E.v.
Soots A. In Situ Effector Mechanisms in Rat
Kidney Allograft Rejection, III. Kine-
tics of the Inflammatory Response and
Generation of Donor Directed Killer
Cells, Scandinavian Journal of Immuno-
logy, 10: 95 - 108 (1979)
- 66 Häyry P.
Willebrand E. v.
Ahonen J.
Lindström L.
Eklund B. Use of Fine Needle Aspiration Cytology
in the Monitoring of the in Situ In-
flammatory Response of Kidney Allograft
Rejection and the Impact of Glucocorti-
costeroids on the Inflammation, Trans-
plantation Proceedings, XII/2:
331 - 334 (1980)

- 67 Häyry P.
Willebrand E. v. Transplant Aspiration Cytology in Diagnostic Evaluation of Renal Allografts, Transplantation Proceedings, XIII/3: 1575 - 1578 (1981)
- 68 Häyry P.
Willebrand E. v. Practical Guidelines for Fine Needle Aspiration Biopsy of Human Renal Allografts, Annals of Clinical Research, 13: 288 - 306 (1981)
- 69 Häyry P.
Willebrand E. v.
Ahonen J.
Eklund B.
Lautenschlager J. Monitoring of Organ Allograft Rejection by Transplant Aspiration Cytology, Annals of Clinical Research, 13: 264 - 287 (1981)
- 70 Häyry P.
Willebrand E. v. Monitoring of Human Renal Allograft Rejection with Fine Needle Aspiration Cytology, Scandinavian Journal of Immunology, 13: 87 - 97 (1981)
- 71 Häyry P. Immunobiology of Transplant Rejection Annals of Clinical Research, 13: 172 - 198 (1981)
- 72 Häyry P.
Ahonen J.
Willebrand E. v. Effect of Cy-A on the in Situ Inflammatory Response of Human Renal Allograft Rejection, Scandinavian Journal of Immunology, 16: 135 - 149 (1982)
- 73 Häyry P.
Willebrand E. v. Reproducibility of Fine Needle Aspiration Biopsy (FNAB) Abstracts: 10. International Congress of the Transplantation Society Minneapolis, Minnesota, August 1984
- 74 Held E.
Edmaier M.A. Diagnostik bei Abstoßungsreaktion: Praxis der Nierentransplantation, herausgegeben: F.W. Albert, Schattauer Verlag: 175 - 190 (1980)
- 75 Heilmeyer L.
Begemann H. Atlas der klinischen Hämatologie, Springer Verlag: 1 - 77 (1978)
- 76 Hitchings G.H.
Elion G.B. Chemical Suppression of the Immune Response, Pharmacological Review, 15: 365 - 405 (1963)
- 77 Hoitsma A.
Reekers P.
Kreeftenberg J. Treatment of Acute Rejection of Cadaveric Renal Allografts with Rabbit Antithymocyte Globulin, Transplantation, 33/1: 12 - 16 (1982)

- 78 Homann W. Treatment of Kidney Allograft Rejection
Falne J. with Cy-A,
French M. Lancet, August 25: 421 (1979)
Millard P.
Morris P.
- 79 Kahan B.D. The Value of Serial Serum Trough Cyclo-
Wideman C.A. sporine Levels in Human Renal Trans-
Reid M. plantation, Transplantation Proceedings,
Gibbons S. XVI/5: 1195 - 1199 (1984)
Jarowenko M.
Flechner S.
Van Buren C.T.
- 80 Kirkpatrick Ch. Transplantation Immunology: Clinical
Leech St. Aspects, JAMA, Nov. 26, 248/20:
2727 - 2733 (1982)
- 81 Klintmalm G. Optimal Cyclosporine Plasma Levels De-
Säwe J. cline with Time of Therapy, Transplan-
Bahr C. v. tation Proceedings, XVI/5:
Ringden O. et al. 1208 - 1211 (1984)
- 82 Koller Ch. Evaluation of FNAB and TAC by Coulter
Stadler J. Counting, Renal Transplant Cytology
Hammer C. 2. International Workshop Paris 1983
Schneider B. 1984 Wichtig Editore, Milano Italy:
Land W. 39 - 44
Brendel W.
- 83 Koller Ch. Correlation between Core Biopsy and
Hammer C. Aspiration Cytology, Transplantation
Gokel M. Proceedings, XVI/5: 1298-1300 (1984)
Land W.
Hillebrand D.
Castro L.
Stadler J.
Weber B.
- 84 Land W. Transplantationszentrum München
1976 - 1982: 110 - 112
- 85 Land W. Nierentransplantation bei Risiko-
Castro L. patienten, Bayer. Internist 4:
Illner W.B. 15 (1982)
- 86 Larsson E. Cy-A and Dexamethasone Suppress
T-Cell Responses by Selectively
Acting at Distinct Sites of the
Triggering Process. Journal of
Immunology, 124/6:
2828 - 2833 (1980)

- 99 Opelz G.
Terasaki P.J. Improvement of Kidney Graft Survival with Increased Numbers of Blood Transfusions, New England Journal of Medicine, 299: 799 (1978)
- 100 Otis R.D.
Teunant R. Hydrochloric Acid for Stromatolysis of Erythrocytes in Coulter Leukocyte Counting, The American Journal of Clinical Pathology, 35/4: 383 - 386 (1961)
- 101 Pass R.F.
Griffiths P.D.
August A.M. Antibody Response to Cytomegalovirus after Renal Transplantation: Comparison of Patients with Primary and Recurrent Infections, Journal of Infectious Diseases, 147/1: 40 - 46 (1983)
- 102 Pasternack A.
Virolainen M.
Häyry P. Fine Needle Aspiration in the Diagnosis of Human Renal Allograft Rejection, The Journal of Urology, 109: 167 - 172 (1973)
- 103 Pichlmayr R.
Brendel W.
Zenker R. Production and Effects of Heterologous Anti- Canine Lymphocyte Serum Surgery, 61: 774 - 783 (1967)
- 104 Pichlmayr R.
Coburg A.I. Transplantationschirurgie: Indikation zur Nierentransplantation, Springer Verlag: 357 - 377 (1981)
- 105 Platt J.L.
Le Bien T.W.
Michael A.F. Interstitial Mononuclear Cell Populations in Renal Graft Rejection Journal of Experimental Medicine, 155: 17 - 30 (1982)
- 106 Reis G.
Shevach E. Effect of Cy-A on T-Cell Function in Vitro: The Mechanism of Suppression of T-Cell Proliferation Depends on the Nature of the T-Cell Stimulus as well as the Differentiation State of the Responding T-Cell, Journal of Immunology, 129/6: 2360-2367 (1982)
- 107 Reitamo S.
Konttinen Y.T.
Ranki A.
Häyry P. The Relation of Different Inflammatory Cell Types to the Various Parenchymal Components of Rejecting Kidney Allografts, Histopathology, 4: 517 - 532 (1980)
- 108 Richar W.J.
Breakell E.S. Evaluation of an Electronic Particle Counter for the Counting of White Blood Cells, American Journal of Clinical Pathology, 31/5: 384 - 393 (1959)

- 109 Ring J.
Seiffert J.
Seiler F.
Brendel W. Zum Risiko einer ALG-Therapie. Mögliche Nebenwirkungen, Prophylaxe und Behandlung, Klinische Wochenschrift 51: 487 - 493 (1973)
- 110 Ronald D.
Guttmann M.D. Medical Progress: Renal Transplantation (Second of Two Parts), The New England Journal of Medicine, 301/19: 1038-1048 (1979)
- 111 Rössler E. Wertigkeit der Feinnadelaspirationszytologie zur Diagnose pathologischer Vorgänge nach allogener Nierentransplantation (1983), Dissertationsarbeit an der LMU-München
- 112 Rowlands D.T.
Hill G.S.
Zmijewski Ch.M. The Pathology of Renal Homograft Rejection, American Journal of Pathology, 85/3: 774 - 804 (1976)
- 113 Saksela E.
Timonen T.
Ranki A.
Häyry P. Morphological and Functional Characterisation of Isolated Effector Cells Responsible for Human Natural Killer Activity to Fetal Fibroblasts and to Cultured Cell line Targets (A Review) Immunological Review, 44: 71 - 123 (1979)
- 114 Salaman J.R. Pharmacologic Immunosuppression, Transplantation Proceedings, XIII/1: 311 - 314 (1981)
- 115 Stadler J.
Koller Ch.
Hammer C.
Land W.
Schneider B.
Brendel W. Detection of T-Cell Subsets with Monoclonal Antibodies in FNB's, Renal Transplant Cytology 2. International Workshop, Paris: 121 - 125 (1983)
- 116 Stadler J.
Koller C.
Hammer C.
Weber B.
Land W.
Castro L.A.
Brendel W. Monitoring of Viral Infections After Renal Transplantation by Fine Needle Aspiration Biopsy and Monoclonal Antibodies, Transplantation Proceedings, XVII/1 Feb.: 168 - 178 (1985)
- 117 Starzl Th.
Weil R.
Shunzaburo J. The use of Cy-A and Prednisone in Cadaver Kidney Transplantation, Surgery, Gynecology Obstetrics, 151: 17-26 (1980)

- 118 Strom T.B.
Tilney N.L.
Carpenter Ch.B.
Busch G.J. Identity and Cytotoxic Capacity of
Cells Infiltrating Renal Allografts
The New England Journal of Medicine,
292/24: 1257-1263 (1975)
- 119 Strom T.B.
Tilney N.L.
Paradysz J.M.
Bancewicz J.
Carpenter Ch.B. Cellular Components of Allograft Re-
jection: Identity, Specificity and Cyto-
toxic Function of Cells Infiltrating
Acutely Rejecting Allografts, The
Journal of Immunology, 118/6:
2020 - 2026 (1977)
- 120 Thiel G.
Harder F.
Loertscher R.
Brünisholz M.
Landmann J.
Brunner F.
Follat F.
Wenk M.
Mihatsch M. Cyclosporine alone or in Combination
with Prednisone in Cadaveric Renal
Transplantation, Transplantation
Proceedings, XVI/5: 1187 - 1190
(1984)
- 121 Tilney N.L.
Strom T.B.
Macpherson S.G.
Carpenter Ch.B. Studies on Infiltrating Host Cells
Harvested from Acutely Rejecting Rat
Cardiac Allografts, Surgery, 79/2 pp:
209 - 217 (1976)
- 122 Tilney N.L.
Garovoy M.R.
Busch G.J.
Strom T.B.
Graves M.J.
Carpenter Ch.B. Rejected Human Renal Allografts,
Transplantation, 28/5:
421 - 426 (1979)
- 123 Ting A.
Morris P.J. HLA and Organ Transplantation,
Tissue Transplantation, Clinical
Surgery International, 3:
28 - 37 (1982)
- 124 Tutschka P.J. Cy-A - A New Outlook for Immuno-
suppression in Clinical Transplan-
tation, Blut, 39: 81-87 (1979)
- 125 Undritz E. Sandoz Atlas of Haematology, Sandoz
LTD Basel (1978)
- 126 Weber B.
Welte M.
Hammer C.
Stadler J.
Koller Ch.
Csapo Ch.
Land W.
Hillebrand G.
Castro M. Increase of Natural Killer Cells in Re-
jecting Kidney Grafts, Transplantation
Proceedings, XVI/5: 1177-1178
(1984)

- 127 Weber B.
Welter M.
Stadler J.
Koller C.
Hammer C.
Land W.
Castro L.
Hillebrand G.
Schleibner S.
Csapo C.
Brendel W. Detection and Differentiation of
Pathologic Changes in Nonrejecting
Kidney Grafts, Transplantation Pro-
ceedings, XVII/1 Feb.:
120-121 (1985)
- 128 White D.J.G.
Plumb A.
Pawelec G.
Brons G. Cyclosporin A: An Immunosuppressive
Agent Preferently Active against Pro-
liferating T-Cells, Transplantation,
27/1: 55 - 58 (1979)
- 129 White D.J.G.
Plumb A.
Caine R.Y. The Immune Status of Transplant Re-
cipients Immunosuppressed with Cy-A
Transplantation Proceedings, XIII/3
September: 1666-1668 (1981)
- 130 Wiesinger D.
Borel J.F. Studies on the Mechanism of Action of
Cyclosporin A, Immunobiology,
156 pp: 454-463 (1979)
- 131 Willebrand E.v. Cytological Analysis of Fine Needle
Aspirates (FNA) and Interpretation of
Results, Renal Transplant Cytology
2nd International Workshop, Paris 1983
1984 Wichtig Editore, Milano, Italy:
23 - 30
- 132 Willebrand E.v.
Häyry P. Composition and in Vitro Cytotoxicity
of Cellular Infiltrates in Rejecting
Human Kidney Allografts, Cellular
Immunology, 41: 358-372 (1978)
- 133 Willebrand E.v.
Soots A.
Häyry P. In Situ Effector Mechanisms in Rat
Kidney Allograft Rejection,
I. Characterisation of the Host
Cellular Infiltrate in Rejecting Allo-
graft Parenchyma, Cellular Immunology,
46: 309-326 (1979)
- 134 Willebrand E.v.
Soots A.
Häyry P. In Situ Effector Mechanisms in Rat
Kidney Allograft Rejection,
II. Heterogeneity of the Effector Cells
in the Inflammatory Infiltrate vs that
in the Spleen of the Recipient Rat,
Cellular Immunology, 46: 327-336
(1979)

- 135 Willebrand E.v. Fine Needle Aspiration Cytology of
Human Renal Transplants, Clinical
Immunology and Immunopathology,
17: 309 - 321 (1980)
- 136 Zollinger H.U.
Mihatsch M.J. Renal Pathology in Biopsy, Springer
Verlag 4: 565 (1978)

W O R T E D E S D A N K E S

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. W. Brendel für die Aufnahme am Institut sowie für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Dr. med. vet. C. Hammer für die Betreuung meiner Arbeit und für die zahlreichen Anregungen zur Ausarbeitung der Methodik als auch zur Vertiefung der Thematik.

Herrn Prof. Dr. med. W. Land danke ich für die Zustimmung zur Durchführung der Feinnadelbiopsien am Patienten sowie für die Überlassung der klinischen Daten.

Frau Dr. Schneider, Herrn Dr. Banthien, Herrn Dr. Castro, Herrn Dr. Habersetzer, Herrn Dr. Hillebrand und Herrn Dr. Welte möchte ich für die Durchführung der Feinnadelbiopsien und die kollegiale Zusammenarbeit herzlich danken.

Herrn Prof. Dr. med. M. Gokel gilt mein Dank für die fachliche Unterstützung im Bereich seiner pathologischen Untersuchungen der Stanzbiopsien.

Für die täglichen Hilfeleistungen bin ich den Mitarbeitern der Labors des Instituts für Chirurgische Forschung und der Station H 5 des Klinikums Großhadern besonders dankbar.

CHRISTIAN K O L L E R

LEBENS LAUF

Geboren:	12. Mai 1959	in München
wohnhaft:	Berliner Straße 68,	8000 München 40
Vater:	Max Koller	geb. 09.Nov.1912 in München, städt. Amtsrat a.D.
Mutter	Ingeborg Koller geb. Niederwald	geb. 21. März 1931 in München
Bruder:	Maximilian Koller	geb. 09. März 1955 in München Studienreferendar (Sport/Math.)
Schulaus- ausbildung:	1965 - 1969 1969 - 1978 1978	Volksschule in München Oskar-von-Miller-Gymnasium in München Abitur
Berufsaus- bildung:	Seit November 1978	Medizinstudium an der Ludwig- Maximilians-Universität in München
	11.09.1980	Ärztl. Vorprüfung
	10.09.1981	Erster Abschnitt der Ärztl.Prüfung
	04.04.1984	Zweiter Abschnitt der Ärztl.Prüfung
	24.06.1985	Dritter Abschnitt der Ärztl.Prüfung
	01.07.1985	Approbation als Arzt
Bundes- wehr:	Seit 01. Okt. 1985 bis 31. Dez. 1986	Stabsarzt bei der Bundeswehr

